

ZUR BIOLOGISCHEN WIRKUNG VON
PRO- UND ANTIVITAMIN A
BEI GEFLÜGEL

Christian Wirth

Disbui. München

1988



Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. J. Gropp

ZUR BIOLOGISCHEN WIRKUNG VON PRO- UND ANTIVITAMIN A
BEI GEFLÜGEL

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
CHRISTIAN WIRTH
aus
Fürstenfeldbruck

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. J. Gropp

Korreferent: Prof. Dr. H. Gerlach

Tag der Promotion: 26. Februar 1988

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstr. 15, Tel. 288663

Meinen Eltern

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	3
3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	15
4 DISKUSSION	51
5 ZUSAMMENFASSUNG	60
5.1 SUMMARY	62
6 LITERATURVERZEICHNIS	64
7 TABELLENANHANG	73

Charakteristische Merkmale der Mischfutterzusammensetzung haben sich in den letzten 30 Jahren einschneidend verändert, obwohl die Nährstoffträger (in Einzelfuttermitteln) im wesentlichen gleich geblieben sind. So spielt beispielsweise der natürliche Vitamingehalt von Gemengteilen (Einzelfuttermittel) bei der Erstellung einer Futterrezeptur kaum mehr eine Rolle. Preisgünstige Vitaminpräparationen aus der chemischen Synthese stehen unbegrenzt zur Verfügung. Sicherheitszuschläge gegenüber dem Vitamin-Bedarf sind die Regel. Da sich auch der Katalog der Einzelfuttermittel kaum geändert hat, wird von einer gleichbleibenden Verfügbarkeit synthetischer Vitamine ausgegangen. Provitamine wurden in Lehrbüchern verdrängt; in der praktischen Fütterung spielten sie kaum eine Rolle mehr.

Dies begann sich - allerdings nur der Form nach - erst wieder zu ändern, als nach den ersten Untersuchungen von LOTTHAMMER et al. (1976) die Diskussion um eine eigenständige Vitaminfunktion von β -Carotin (Provitamin A) entstand. Da synthetisches β -Carotin relativ teuer ist und bisweilen auch Lieferengpässe auftreten, gewannen natürliche β -Carotin-Träger erneutes Interesse. Solche β -Carotin-Quellen könnten dann zumindest partiell auch wieder eine Rolle in der Vitamin A-Versorgung übernehmen. Aus diesen Überlegungen wurde in Israel (Israel Oceanographic and Limnological Research, Tel-Shikmona, Haifa) und Australien die Züchtung einer Dunaliella-Alge vorangetrieben, die bis zu 8% Carotin - neben einigen Carotinoiden - enthalten soll.

In der vorliegenden Arbeit sollte deshalb die Utilisation von β -Carotin aus *Dunaliella*-Algen zu Vitamin A bei Geflügel näher studiert werden. Da sich im Verlauf der Untersuchungen ergab, daß keine grundsätzlichen Unterschiede zwischen β -Carotin synthetischer Herkunft und aus Algen bestehen, wurde ein grundlegender Versuch mit β -Carotin an Legewachteln durchgeführt.

Schließlich wurde geprüft, ob und inwieweit unkonventionelle Futtermittel wie Single Cell Protein-Produkte einer bestimmten Herkunft (*Methylobacterium* *clara*, auf Methanol gezüchtet) die Vitamin A- und β -Carotin-Verwertung ändern. Erste Anhaltspunkte hierzu mit SCP-Pilotprodukten hatten GROPP et al. (1980) vorgelegt.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Vitamin A

2.1.1 Absorption

2.1.2 Speicherung

2.1.3 Plasmatransport

2.1.4 Vorkommen im Ei

2.1.5 Bedeutung von Vitamin A

2.2 β -Carotin

2.2.1 Absorption und Umwandlung zu Retinol

2.2.2 Bedeutung beim Geflügel

2.3 Die Alge *Dunaliella* als β -Carotin-Quelle

2.4 Antivitamineigenschaften von SCP

2.5 Leberspeichertests zur Vitamin A- und β -Carotin-Bioverfügbarkeit



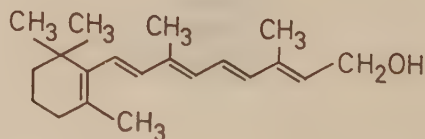
2.1 Vitamin A

Vitamin A (Abb. 1) kommt - im Gegensatz zu β -Carotin - nur in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs vor, hauptsächlich in Leber, Eidotter und Milchprodukten.

2.1.1 Absorption

Das in der Nahrung vor allem als Retinylester vorliegende Vitamin A wird durch verschiedene Enzyme (darunter die Retinylesterhydrolase) zu Retinol umgewandelt und als solches von den Mucosazellen des Duodenums und Jejunums absorbiert (HOLLANDER & MURALIDHARA, 1977; SAUBERLICH, 1985). Etwa 75% des Retinols werden hier mit langkettigen Fettsäuren hauptsächlich zu Palmitat verestert. Gebunden an Chylomikronen gelangt das veresterte Retinol via Lymphe und Pfortadersystem zur Leber. Die gesamte Absorptionsrate von Vitamin A liegt bei 80 bis 90%, ist letztlich aber abhängig von der aufgenommenen Gesamtmenge von Vitamin A und anderen Nahrungsbestandteilen, wie Proteinen, Fetten und Vitamin E (Übersicht nach WOLF, 1984 und OLSON, 1984).

Abb. 1: Strukturformel für Vitamin A



2.1.2 Speicherung

Zwischen 70 und 90% von Vitamin A im Körper wird in Form von Retinylpalmitat in der Leber gespeichert (WOLF, 1984).

Über die Lokalisation des gespeicherten Vitamins innerhalb der Leber bestehen unterschiedliche Ansichten. LINDER et al. (1971), sowie MC KENNA et al. (1983) zeigten auf, daß Vitamin A eine Stunde nach der Fütterung oder nach intravenöser Injektion von Retinol in den Hepatozyten zu finden war. Weniger als 4% wurden in den Kupferzellen gespeichert.

WAKE (1971) dagegen vertrat die Ansicht, daß Vitamin A in den Sternzellen der Leber gespeichert wird. Diesen offensichtlichen Widerspruch konnte eine Untersuchung von BLOMHOFF et al. (1982) erklären: Retinylester werden zuerst in den Hepatozyten gesammelt und dann zur Speicherung an Nichtparenchymzellen (Sternzellen) weitergegeben. Dies bestätigen auch KNOOK et al. (1982).

Ein weiterer, noch erwähnenswerter Speicherort für Vitamin A ist das Pigmentepithel der Retina.

2.1.3 Plasmatransport

In den Leberzellen werden die Vitamin A-Ester in einen Lipoproteinkomplex gebunden, aus dem Retinol durch ein Enzym freigesetzt werden kann.

Nur als Retinol kann Vitamin A an das Carriermolekül apo-RBP (Retinol-Binding-Protein) gebunden werden. Es entsteht das sogenannte holo-RBP, das Retinol im Plasma zu

den Zielorganen bringt (Übersicht nach WOLF, 1984 und OLSON, 1984). Der Plasmaspiegel von holo-RBP ist, bis auf extreme Vitamin A-Mangelsituationen, konstant (SMITH & GOODMAN 1979).

Normalerweise sind etwa 90% des RBP mit Retinol gesättigt und an ein Präalbumin gebunden, das einen Verlust von holo-RBP während der Nierenpassage verhindert (OLSON, 1984).

Spezifische Rezeptoren auf den Zellen der Zielorgane binden den Präalbumin/RBP-Komplex. Innerhalb der Zelle übernimmt ein zelluläres RBP dann das Retinol (CHYTIL & ONG, 1979).

2.1.4 Vorkommen im Ei

Im Gegensatz zum neugeborenen Säugetier, das im allgemeinen geringe Vitamin A-Reserven besitzt, kann das frisch geschlüpfte Küken mehrere Wochen ohne Vitamin A-Zufuhr überstehen (THOMPSON et al., 1969).

Im Eidotter werden große Mengen an Vitamin A für die Reproduktion gespeichert, während im Eiweiß kein Vitamin A zu finden ist (PLACK, 1960).

71 bis 93% des gesamten Vitamin A-Gehaltes im Eidotter liegen nach NEFF et al. (1949) in Form des Retinols vor. Nach reiner Carotinfütterung bewegte sich der Retinolgehalt im Dotter an der unteren Grenze.

AL-HASANI & PARRISH (1972) fütterten japanischen Wachteln β -Apo-Carotinoide als alleinige Vitamin A-Quelle und stellten fest, daß das Verhältnis Retinol : Retinyl-

ester : Retinaldehyd 6:3:1 betrug. Die absoluten Werte für Retinol im Eidotter liegen zwischen 600 und 5000 µg (BLATTNA, 1964).

Einen gewissen Einfluß auf die Menge Vitamin A im Eidotter scheinen die in der Diät verabreichten Gehalte an Vitamin A zu haben. HASHISH et al. (1984) stellten eine Erhöhung des Vitamin A-Gehaltes im Dotter nach Steigerung der Vitamin A-Zufuhr durch das Futter fest.

2.1.5 Bedeutung von Vitamin A

Vitamin A hat lebenswichtige Bedeutung für das Wachstum, insbesondere auch für das Knochenwachstum, für die Konstanthaltung des zerebrospinalen Flüssigkeitsdruckes, für die Fruchtbarkeit und für die Differenzierung epithelialen Gewebes. Im Zusammenhang damit steht die Schutzfunktion, die Vitamin A für den Organismus gegenüber Infektionskrankheiten besitzt. In den letzten Jahren entdeckte man auch eine gewisse Antitumorwirkung von Vitamin A.

Im intrazellulären Stoffwechsel beeinflusst Vitamin A die Protein- und Glykoproteinsynthese (Übersicht nach BONDI & SKLAN, 1984).

2.2 β -Carotin

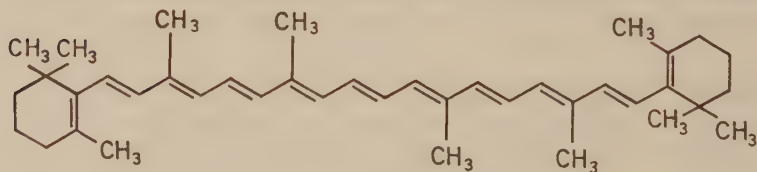
Carotinoide, die im Körper eine Vitamin A-Wirkung entfalten können, nennt man Provitamine A.

Das bekannteste und gleichzeitig wirksamste Provitamin A ist β -Carotin. β -Carotin ist im Tier- und Pflanzenreich weit verbreitet, ist jedoch letztlich immer rein pflanzlichen Ursprungs.

2.2.1 Absorption und Umwandlung zu Retinol

β -Carotin (Abb. 2) wird in Anwesenheit von Nahrungsfetten und Gallensalzen zusammen mit Retinylester in Micellen eingelagert. Durch Diffusion gelangen die Micellen in die Zellen der Darmmukosa (HOLLANDER & RUBLE, 1978). Dort wird β -Carotin durch eine Dioxygenase zu Retinal

Abb. 2: Strukturformel für β -Carotin



gespalten (GOODMAN et al., 1967). Eine Reduktase führt Retinal über in Retinol (FIDGE & GOODMAN, 1968).

Aus einem Molekül β -Carotin entsteht bei dieser Spaltung ein Molekül Vitamin A. Bei Ratten und beim Geflügel sind 0,6 μg β -Carotin wirkungsgleich mit 0,3 μg Retinol (= 1 I.E. Vitamin A). Das entspricht einem Umwandlungsverhältnis β -Carotin : Vitamin A von 2 : 1.

2.2.2 Bedeutung beim Geflügel

Einige Carotinoide entgehen der Spaltung bei Mensch, Geflügel, Rind und Pferd. Sie gelangen unversehrt in den Blutkreislauf. Beim Geflügel handelt es sich dabei vor allem um Carotinoide (Xanthophylle), die keine Vitamin A-Aktivität besitzen (THOMPSON, 1975).

Diese Carotinoide sind u.a. für die Eidotterpigmentierung verantwortlich. β -Carotin selbst hat praktisch keinen Einfluß auf die Dotterfarbe (TAGWERKER et al., 1962; HOPPE et al., 1970).

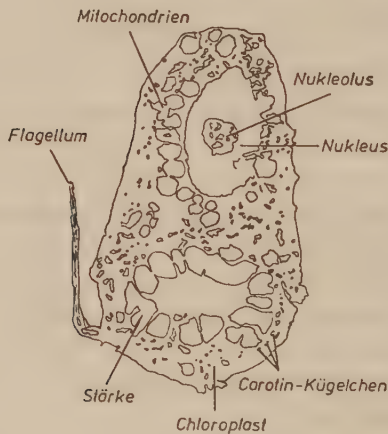
2.3 Die Alge Dunaliella als β -Carotin-Quelle

Bereits in den frühen vierziger Jahren wurden Überlegungen angestellt, Mikroalgen als Nahrungsquelle und für die Gewinnung biochemischer Stoffe zu nützen (BOROWITZKA et al., 1984). Im Laufe der Jahre wurden eine Reihe von Mikroalgen für die kommerzielle Nutzung gefunden, darunter die Arten Chlorella, Scenedesmus, Spirulina (SOEDER, 1976) und Dunaliella (AASEN, 1969; BEN-AMOTZ & AVRON, 1980).

Bei *Dunaliella* (Abb. 3) handelt es sich um eine einzellige, grüne Alge, die keine Zellwand, sondern nur eine Plasmamembran besitzt (SHEFFER & AVRON, 1986). *Dunaliella* findet man in Gewässern mit unterschiedlichster Salzkonzentration, von sehr geringem Salzgehalt bis fast zur NaCl-Sättigung.

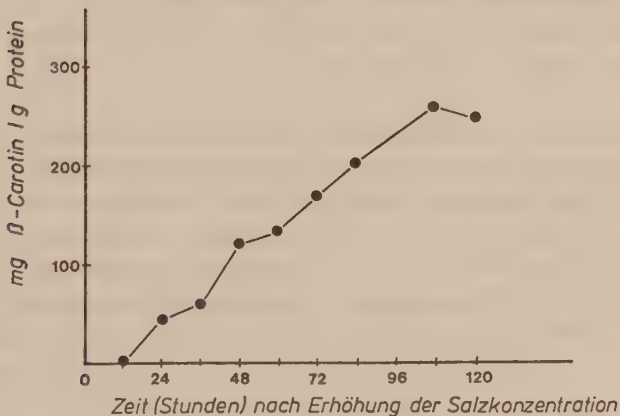
Osmoregulatorisch steht hohen extrazellulären NaCl-Konzentrationen vor allem intrazelluläres Glycerol gegenüber. Auf Veränderungen des Salzgehaltes im umgebenden Milieu reagiert die Alge mit Synthese oder Elimination von Glycerol und damit verbunden mit einer Zu- oder

Abb. 3: Alge *Dunaliella*: Zeichnung nach einer elektronenmikroskopischen Aufnahme von BEN-AMOTZ & AVRON (1981)



Abnahme des Zellvolumens (BEN-AMOTZ & AVRON 1973 und 1981). Eine weitere bedeutende Eigenschaft, zumindest einiger *Dunaliella*-Arten (z.B. *D. bardawil*), ist die Fähigkeit, große Mengen β -Carotin zu produzieren. Unter geeigneten Kultivierungsbedingungen (hohe Salzkonzentration, große Lichtintensität, eine Temperatur von 30 Grad Celsius und kein Nitrat) sind im Trockengewicht der Alge mindestens acht Prozent β -Carotin enthalten, das in Kügelchen gespeichert wird (BEN-AMOTZ & AVRON, 1981; BEN-AMOTZ et al., 1982). Diese Kügelchen liegen - im Gegensatz zu denen anderer Carotin-enhaltender Pflanzen - nicht innerhalb der Thylakoidmembran des Chloroplasten, sondern im interthylakoiden Raum.

Abb. 4: Einfluß einer Salzkonzentrationserhöhung
im Medium auf den Carotingehalt der Alge
(nach BOROWITZKA et al., 1984)



Hohe Lichtintensität und begrenzte Wachstumsbedingungen fördern die Akkumulation von β -Carotin (BEN-AMOTZ & AVRON, 1981). Auch BOROWITZKA et al. (1984) stellten diese indirekte Proportionalität zwischen Produktion von Biomasse und β -Carotin fest. Abb. 4 zeigt die Abhängigkeit des β -Carotin-Gehaltes der Alge von der Salzkonzentration des umgebenden Milieus.

Als ein Grund für die carotinoidreichen Zellen einiger *Dunaliella*-Arten wird eine Schutzfunktion vor zu starker Sonnenstrahlung angenommen (BEN-AMOTZ & AVRON, 1981 ; BOROWITZKA et al., 1984).

In Israel und Australien werden große Anstrengungen unternommen, vor allem *Dunaliella salina* in Freilandkulturen zu züchten und β -Carotin für die kommerzielle Nutzung zu gewinnen (SCHLIPALUS, 1987).

2.4 Antivitamineigenschaften von SCP

Unter Single Cell Protein (abgekürzt SCP) versteht man eine Biomasse getrockneter Zellen von Mikroorganismen (Hefen, Bakterien, Pilze oder Algen).

Hauptsächlich werden solche Mikroorganismen durch Fermentation auf Substraten wie Alkanen, niedrigen Alkoholen (z.B. Methanol, Äthanol) oder industriellen und landwirtschaftlichen Abfallprodukten produziert. Die Kultivierung erfolgt unter standardisierten und genau kontrollierten Bedingungen. Die Biomasse wird u.a. auch als Proteinquelle in der Tierernährung benutzt (HOGERHEIDE et al., 1979).

Vor dem Einsatz von SCP werden Fütterungsversuche an

Labor- und landwirtschaftlichen Nutztieren durchgeführt, um Proteinqualität, Nährwert und vor allem auch Toxizität zu testen (PAG Guideline No. 6, 1970).

Dabei wurde u.a. festgestellt, daß auf Methanol gezüchtetes, bakterielles SCP bestimmter Hersteller eine "Antivitamineigenschaft" besitzt. GROPP et al. (1980), KRAUSS (1982), FUCHS (1983) und KONRAD (1983) führten Fütterungsversuche mit Hühnerküken und japanischen Wachteln durch. Eine Kontrollgruppe, die als Eiweißquelle Sojaprotein erhielt, wurde mit Tiergruppen verglichen, die SCP als alleinige Eiweißquelle erhielten. Als Nebenwirkungen bei den mit SCP gefütterten Gruppen traten auf: Diarrhoe, Rachitis und erhöhte Leber- und Dünndarmgewichte.

Der Vitamin D-Gehalt im Futter war für die mit Soja gefütterten Kontrollgruppen ausreichend, mußte aber für SCP-Gruppen um das Vierfache erhöht werden, um die Vitamin-D-typischen Mangelerkrankungen zu vermeiden. Einen maximalen Effekt erzielten 10 000 I.E. Vitamin D pro kg Futter (GROPP et al., 1980; GROPP & STADLER, 1981).

FUCHS (1983) konnte belegen, daß es sich um eine Vitamin D-Malabsorption bei den SCP-Gruppen handelt. Er legte ferner Ergebnisse an Hühnerküken und Legewachteln vor, welche auch bei Vitamin A auf ähnliche Resorptionsstörungen hindeuten.

Bei Legewachteln vermindern schon 5% SCP im Futter die Intensität der durch Carotinoide bestimmten Dotterfarbe (FUCHS, 1983).

FUCHS (1983) und BERNINGER-EISELE (1987) halten Diarrhoe

und Dünndarmverdickung als alleinige Ursache der Malabsorption für unwahrscheinlich, weil auch mit nucleinsäurearmen SCP-Präparationen, welche die Dünndarmverdickung kaum noch auslösen, ähnliche Effekte auf die Vitamin A-Resorption gemessen werden konnten.

2.5 Leberspeichertest zur Vitamin A- und Provitamin A-Bioverfügbarkeit

Leberspeichertests sind - genauso wie Wachstumstests - Verfahren, die die biologische Aktivität von verschiedenen Vitamin A- bzw. Carotinformen vergleichen. Diese biologischen Tests sind in ihrer Aussagekraft, was Absorption, Metabolisierung, Speicherung und Transport betrifft, unersetzbar (Übersicht nach OLSEN, 1984).

Ratten und Küken eignen sich für solche Versuche besonders gut: sie besitzen eine hohe Wachstumsrate und haben einen geringen Futterbedarf. Deswegen können die Tierzahl und die Zahl der Wiederholungen erhöht werden.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Versuchstiere

3.1.2 Haltungsbedingungen

3.1.3 Fütterung

3.1.4 Vitamin A-Bestimmung in der Leber

3.1.5 Retinolbestimmung im Eidotter

3.2 Versuch I

3.2.1 Versuchsplan

3.2.2 Rationszusammensetzung

3.2.3 Ergebnisse

3.3 Versuch II

3.3.1 Versuchsplan

3.3.2 Rationszusammensetzung

3.3.3 Ergebnisse

3.4 Versuch III

3.4.1 Versuchsplan

3.4.2 Rationszusammensetzung

3.4.3 Ergebnisse

3.5 Versuch IV (β -Carotin-Umwandlung in Eidotter-retinol)

3.5.1 Versuchsplan

3.5.2 Rationszusammensetzung

3.5.3 Ergebnisse

3.1 Material und Methoden

In zwei Versuchen (I und II) sollte die Bioverfügbarkeit von β -Carotin aus der Alge *Dunaliella* bei Wachtel- und Hühnerküken untersucht werden. Zum Vergleich wurden Kontrollgruppen mit synthetischem Vitamin A und β -Carotin gefüttert. In den Lebern der Tiere wurde der Vitamin A-Gehalt analysiert.

Die Alge *Dunaliella* wurde uns freundlicherweise von Herrn Ben-Amotz, Haifa, Israel, zur Verfügung gestellt. An dieser Stelle möchte ich mich dafür herzlich bedanken.

In einem weiteren Versuch (III) wurde geprüft, inwieweit eine Vitamin A-Malabsorption bei Hühnerküken durch verschiedene SCP-Präparationen verursacht wird.

Schließlich sollte in Versuch IV an Legewachteln die Umwandlung von Vitamin A und β -Carotin bei verschiedenen Futterkonzentrationen in Eidotter-Vitamin A untersucht werden.

3.1.1 Versuchstiere

Für die Versuche II und III wurden männliche Mastküken (Lohmann B 975) der Brüterei Süd verwendet.

Die Wachtelversuche (I und IV) wurden mit Tieren aus der institutseigenen Koloniezucht durchgeführt.

3.1.2 Haltungsbedingungen

Die als Eintagsküken angelieferten Tiere wurden in Mastbatterien auf Drahtgittern gehalten. Der Stall wurde 24 Stunden dauerbeleuchtet und durch ein Warmluftgebläse beheizt. Pro Käfig (Grundfläche 113 x 71 cm, Höhe 35 cm) wurden während der Versuchsperiode 7 Tiere gehalten.

Die Haltung der Wachtelküken für Versuch I erfolgte in einem entsprechend eingerichteten Aufzuchtstall, der durchgehend beleuchtet und altersentsprechend beheizt wurde (Tab. 1).

Der Legewachtelversuch wurde in einem mit durchschnittlich 27 Lux pro Versuchsgruppe beleuchteten und auf 20 Grad Celsius geheizten Raum durchgeführt. Zwei bis drei Tiere waren in einem Käfig (Grundfläche 30 x 31 cm, Höhe 16 cm) untergebracht. Der Käfigboden war leicht geneigt, um das Sammeln der Eier an der vorderen Käfigfront zu erleichtern.

Tab. 1: Raumtemperatur im Wachtelaufzuchtstall

Alter der Tiere	Stalltemperatur (Grad Celsius)
1. - 2. Tag	40
3. - 4. Tag	38
5. - 7. Tag	36
2. Woche	36 - 32
3. Woche	32 - 28
4. Woche	28 - 24
5. Woche	24 - 22

3.1.3 Fütterung

Sämtliche Futtermischungen wurden am Institut hergestellt und gegebenenfalls pelletiert. Als Futtertypen wurden ausschließlich "gereinigte Diäten" verwendet. Den Versuchen ging eine Depletionsperiode mit Vitamin A-armem Futter voraus. In den Versuchen I und II wurde Vitamin A in je 3 Rationen mit einem Steigungsfaktor von 1,67 eingemischt. In Versuch IV war der Faktor 2.

Ebenso wurde bei den β -Carotin- bzw. Dunaliella-Rationen verfahren. Dabei entsprachen die Vitamin A-Rationen (in I.E.) den β -Carotin-Rationen (in mg) laut Definition des Committee on Biological Standardization of the World Health Organization (1949):

$$1 \text{ I.E. Vitamin A} = 0,3 \mu\text{g Retinol} = 0,6 \mu\text{g } \beta\text{-Carotin}$$

Beim SCP-Versuch (III) wurden 50 000 I.E. Vitamin A pro kg Futter in allen Rationen bei unterschiedlicher Eiweiß- bzw. SCP-Quelle zugemischt.

Futter und Wasser konnten die Tiere ad libitum aufnehmen. Den Wachtelküken (Versuch I) wurde mehlförmiges, den Tieren aus den anderen Versuchen pelletiertes Futter angeboten.

Das pelletierte Futter benötigt noch den Zusatz von Calcium-Propionat (Luprosil der BASF), um eine bakterielle Kontamination, die aufgrund des notwendigen Wasserzusatzes entstehen könnte, zu verhindern.

3.1.4 Vitamin A-Bestimmung in der Leber

Die Lebern der Versuchstiere aller 4 Versuche wurden einzeln auf den Gehalt an Vitamin A analysiert. Das Verfahren wurde von HOPPE & BRÜGGEMANN (1972) beschrieben:

1,5 g Lebergewebe wird in einer Kristallisierschale mit 2 ml 25%iger wässriger KOH, 1 ml 10%iger äthanolischer Hydrochinonlösung und 1 Tropfen farblosem Olivenöl auf dem Wasserbad (80 Grad Celsius) etwa 7 Minuten bis zur Auflösung des Gewebes digeriert und nach Zugabe von 8 ml Äthanol hydrolysiert. Man läßt den Ansatz bis zur sirupartigen Konsistenz abdampfen, verreibt mit einem Eßlöffel Natriumsulfat sicc., überführt das Adsorbat in einen Schliff-Messzylinder und gibt 50 ml Diäthyläther (peroxydfrei, wasserfrei) dazu. Der Ansatz wird 5 Minuten geschüttelt und zur Sedimentation 1 Stunde im Dunkeln stehengelassen. 7 ml Ätherextrakt werden mit 3 ml Aqua dest. in einem Schliff-Zentrifugenglas geschüttelt und eine Minute bei 3500 UpM zentrifugiert. 5 ml der Ätherphase werden mit 5 ml Petroläther (Siedebereich 40 bis 60 Grad Celsius) geschüttelt und zur Abscheidung von Wasserspuren zentrifugiert. Der Ansatz wird zur Trockne eingeeengt und in eine geeignete Menge Isopropanol aufgenommen. Die Extinktion wird bei 325 nm photometrisch gemessen.

Die Ergebnisse werden angegeben als I.E. Vitamin A pro g Leber und Gesamtleber. Außerdem wurde der sogenannte Speicherindex errechnet. Unter Speicherindex (ausgedrückt in Prozent) versteht man den Quotient aus der Menge Vitamin A pro Leber und der über das Futter aufgenommenen Menge an Vitamin A.

3.1.5 Retinolbestimmung im Eidotter

Die Wachteleier aus Versuch IV wurden im 2-Tagesabstand gesammelt und die Eidotter käfigweise gepoolt.

Zur Analyse (modifizierte Methode nach SPEAR, 1987) werden etwa 0,2 g Eidotter und dazu die 10-fache Menge Natriumsulfat eingewogen. Die Einwaage wird zu einem homogenen Pulver verrieben. 0,4 g von diesem Pulver werden mit 2 ml (frischem) Tetrahydrofuran und 2 ml n-Hexan 10 Minuten geschüttelt, dann weitere 10 Minuten zentrifugiert. Ein Aliquot von 2 ml wird aus dem Überstand entnommen und unter schwachem Stickstoffzustrom im Wasserbad ($T < 45$ Grad Celsius) eingeeengt. Die Wiederaufnahme erfolgt in 0,5 ml Äthanol- und Methanolgemisch (9 : 1). Retinol (bzw. Retinylpalmitat und Retinaldehyd) wurde durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) bestimmt.

HPLC-Gerätekonfiguration:

Einspritzsystem: Waters Associates Model U 6 K Injector

Pumpe: Kontron Instruments LC Pump 414

Säule: Firma Grom Lichrosorb RP 18

Detektor: Waters Associates

Schreiber: Philips PM 8222 dual-pen recorder

3.2 Versuch I (Dunaliella-Wachtelkücken)

3.2.1 Versuchsplan

Der Versuch war in zwei Perioden unterteilt:

Einer 3-wöchigen Vitamin A-Depletierung (Vorperiode: 4.6.- 25.6.1984) folgte eine 2-wöchige Versuchsperiode (25.6.- 9.7.1984). In der Vorperiode erhielten ein-Tag-alte Wachtelkücken (beiderlei Geschlechts) eine Vitamin A arme Ration auf der Basis Sojaprotein (Sojafainmehl und Maisstärke, s. Tab. 3). Nach drei Wochen zeigten ca. 10% der Wachteln augenfällige Vitamin A-Mangelercheinungen (Ataxie). Anschließend wurden die Küken in annähernd gewichtsgleiche Gruppen eingeteilt und nach Zufall auf die Rationsgruppen verteilt. Die Rationen enthielten unterschiedliche Vitamin A-, β -Carotin- bzw. Algen- β -Carotin-Gehalte. Der Steigerungsfaktor der Vitamindosierung betrug von Ration zu Ration 1,67. Die Versuchsanlage ist aus Tab. 2 ersichtlich.

Tab. 2: Versuchsanlage
Versuch I

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Vit. A 1) (mg Ret./kg)	7,2	12,0	20,0	---	---	---	---	---	---
β -Carotin 2) (mg/kg)	---	---	---	14,4	24,0	40,0	---	---	---
Algen- β -C. (mg/kg)	---	---	---	---	---	---	14,4	24,0	40,0
Tierzahl	28	28	28	28	28	28	28	28	28
Wieder- holungszahl	4	4	4	4	4	4	4	4	4

1) Lutavit der Firma BASF, Ludwigshafen

2) β -Carotin der Firma BASF, Ludwigshafen

Die Alge *Dunaliella* wurde hinsichtlich ihres β -Carotin-Gehaltes untersucht (ANALYSENKOMMISSION DER EWG, 1968) und entsprechend den Rationen (4), (5) und (6) dosiert. Laut Analyse enthielt *Dunaliella* 2,2% β -Carotin.

Zu Versuchsbeginn und -ende wurde die Lebendmasse festgestellt. Unmittelbar nach Versuchsende wurden die Lebern entnommen, gewogen und bis zur Vitamin A-Analyse tiefgefroren aufbewahrt.

3.2.2 Rationszusammensetzung

Die Zusammensetzung der Ration ist in Tab. 3 angegeben. Das Futter wurde in Mehlform angeboten. Für die eigentliche Versuchsperiode wurde Vitamin A, β -Carotin sowie die *Dunaliella*-Alge entsprechend dem Versuchsplan über

Tab. 3: Rationszusammensetzung (%)
Versuch I

Sojafeinmehl	40,00
Sojaschrot	20,00
DL-Methionin	0,40
Glycin	1,00
K ₂ HPO ₄	1,00
Na ₂ HPO ₄	0,50
NaCl	0,30
CaCO ₃	1,73
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,80
CaHPO ₄ x 2 H ₂ O	1,30
Zellulose	2,00
Vitamin-VM (A-arm) 1)	0,50
Spurenelement-VM 2)	0,50
Maisstärke	17,47
Sojaöl	12,00
Ca-Propionat	0,50

1) Vitaminvormischung s. Tabellenanhang, Tab. a

2) Spurenelementvormischung s. Tabellenanhang, Tab. b

Vormischungen dem Futter auf Kosten von Maisstärke zugesetzt.

Als Vitamin A- und β -Carotin-Quellen fanden Produkte der Firma BASF, Ludwigshafen, Verwendung.

3.2.3 Ergebnisse

Der Vitamin A- bzw. β -Carotingehalt im fertig gemischten Futter der 9 verschiedenen Rationen wurde untersucht. Tab. 4 vermittelt eine Übersicht über die Futteranalysen. Im Mittel lag der Ist-Gehalt des Futters bei Vitamin A um 10,7% unter dem Soll-Gehalt, bei β -Carotin um 14,0% und bei Dunaliella-Carotin um 6,7%. Die Vitaminkonzentration im Futter sollte nach Versuchsplan jeweils um den Faktor 1,67 ansteigen. Die analysierten Werte folgten in etwa den geforderten Verhältnissen (1,65 für Vitamin A, 1,60 für β -Carotin, 1,62 für Dunaliella-Carotin).

Tab. 4: Futteranalysen
Versuch I

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Vitaminquelle	Vitamin A (mg Ret./kg)			β -Carotin (mg/kg)			Algen- β -Carotin (mg/kg)		
Soll-Gehalt	7,2	12,0	20,0	14,4	24,0	40,0	14,4	24,0	40,0
Ist-Gehalt	6,4	11,0	17,4	12,9	20,3	33,1	13,7	22,8	35,9

In Tab. 5 ist die Lebendmassezunahme und der Futterverzehr der Wachteln wiedergegeben. Die Tiere waren zu Versuchsbeginn (3 Wochen alt) durchschnittlich 69,7 g schwer. Die Lebendmasse zu Versuchsende war in den Gruppen mit Vitamin A-Rationen geringfügig niedriger als in den anderen Gruppen. Diese Unterschiede sind wahrscheinlich auf Änderungen im Futterverzehr zurückzuführen. Hier waren bei den mit Vitamin A gefütterten Wachteln ebenfalls niedrige Werte zu beobachten. Das Geschlechtsverhältnis, welches den Lebendmassemittelwert ebenfalls beeinflussen könnte, wurde nicht bestimmt.

Insgesamt gesehen wurde aber in allen Gruppen ein relativ gutes Wachstum erreicht. Die Versuchsvariablen Vitamin- bzw. Provitamin A-Gehalt im Futter dürften daher erwartungsgemäß (reichliche Vitamin A-Dosierung auch in der niedrigsten Konzentrationsgruppe) das Wachstum nicht beeinflusst haben.

Tab. 5: Lebendmassezunahme, Futterverzehr (Mittelwerte mit Standardabweichung s bzw. Spannweite R), LM bei VB 69,7 g Versuch I

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Vitaminquelle	Vitamin A			β-Carotin		Algen-β-Carotin			
Tierzahl VB	28	28	28	28	28	28	28	28	28
VE	27	24	21	22	25	24	27	27	28
Lebendmasse-									
zunahme (g)	37,7	31,9	36,8	39,7	41,0	39,8	39,2	38,1	38,8
+ s	12,1	15,0	8,9	15,5	11,0	10,4	10,4	8,8	14,1
Futterverzehr									
pro Tier (g)	205	203	200	213	221	217	222	219	230
R *	21	11	2	18	28	47	41	25	16

R * Der Futterverzehr konnte jeweils nur für die Tiere eines Käfigs errechnet werden

VB = Versuchsbeginn , VE = Versuchsende , LM = Lebendmasse

Nach der Depletionsperiode wiesen die Lebern von 6 zu Versuchsbeginn geschlachteten Wachteln im Durchschnitt einen Vitamin A-Gehalt von 11 I.E. pro g Leber auf.

Aus Tab. 6 wird ersichtlich, daß bei den Vitamin A-Rationen (1), (2) bzw. (3) die Leber-Vitamin A-Werte, bezogen auf g Leber wie auch auf Lebergesamtgewicht, am höchsten waren ($P < 0,01$), verglichen mit den Ergebnissen der entsprechenden Rationen mit β -Carotin und Algen- β -Carotin.

Der höchste Speicherindex wurde demzufolge in den Vitamin A-Gruppen (1), (2) und (3) mit Ergebnissen zwischen

Tab. 6: Leberanalysen (Mittelwerte mit Standardabweichung s bzw. Spannweite R)
Versuch I

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Vitaminquelle	Vitamin A (mg Ret./kg)			β -Carotin (mg/kg)		Algen- β -Carotin (mg/kg)			
Dosierungen	7,2	12,0	20,0	14,4	24,0	40,0	14,4	24,0	40,0
Probenzahl	27	24	21	22	25	24	27	27	28
Wiederholungszahl	4	4	4	4	4	4	4	4	4
I.E./g Leber $\pm s$	389 ^d 85	666 ^f 210	1225 ^g 269	154 ^a 42	299 ^{bc} 68	227 ^{ab} 53	246 ^b 68	330 ^{cd} 99	541 ^e 140
I. E./ Leber $\pm s$	951 244	1489 617	2982 668	380 131	779 241	549 123	587 219	800 253	1283 401
Speicherindex (%)	21,6	19,6	25,7	8,1	10,4	4,6	11,5	9,5	9,3
R	5,5	9,8	7,1	3,9	3,4	1,7	4,0	3,8	1,2

Werte mit unterschiedlichen Buchstabenindices sind mit $P < 0,05$ voneinander verschieden (Varianzanalyse, Scheffé - Test).

19,6 und 25,7% erreicht. Deutlich schlechter schnitten die Gruppen mit β -Carotin ab (11,5 - 4,6%).

Der Versuch erlaubt keine Bewertung der β -Carotin Präparation, weil sie sich grundlegend anders als erwartet und anders als Dunaliella-Carotin verhielt. Da die Dosis-Wirkungsbeziehung auch keiner linearen Bewertung folgte, müssen Störfaktoren oder eine begrenzte Bioverfügbarkeit als Ursache diskutiert werden.

Zwischen den Vitamin A-Quellen bestehen signifikante Unterschiede hinsichtlich der Ausprägung des Vitamin A-Speichers pro g Leber. Mit Vitamin A wurden die höchsten (im Mittel 725 I.E. Vitamin A/g), mit β -Carotin die niedrigsten (230 I.E. Vitamin A/g) Speicherwerte erzielt.

Ähnlich verhalten sich die Dosierungen. Die niedrigsten Vitamin A- und Provitamin A-Dosierungen (7,2 mg Ret./kg bzw. 14,4 mg β -Carotin/kg) führten zu einem Vitamin A-

Tab. 7: Varianzanalyse
Versuch I

Streuungsursache	Summe der Abweichungs- quadrate	FG	Varianz	F	P
Vitaminquelle (V)	9.357.385	2	4.678.693	268,66	< 0,001
Dosierung (D)	4.965.039	2	2.482.519	142,55	< 0.001
Interaktion (VxD)	4.932.980	4	1.233.243	70,81	< 0,001
Rest	3.761.684	216	17.415		
Gesamt	23.017.088	224			

Gehalt von durchschnittlich 270 I.E. Vitamin A/g Leber, die mittleren zu 426 I.E. Vitamin A/g Leber, die höchsten (20,0 mg Ret./kg bzw. 40 mg β -Carotin/kg) zu 634 I.E. Vitamin A/g Leber ($P < 0,05$).

Die Interaktion Vitaminquelle x Dosierung war ebenfalls hochsignifikant. Daraus läßt sich der bereits aus einem Zahlenvergleich gewonnene Eindruck bestätigen, daß sich die verschiedenen Dosierungen innerhalb der einzelnen Vitamin A-Quellen unterschiedlich auf das Speicherverhalten auswirkten. So war beispielsweise durch die 3 Vitamin A-Dosierungen der Vitamin A-Leberspeicher um den Faktor 1,7 (bei 7,2 mg Ret./kg gegenüber 12 mg Ret./kg) bzw. 1,8 (bei 12 mg Ret./kg gegenüber 20 mg Ret./kg Futter) erhöht. Die korrespondierenden Werte für Duna-liella-Carotin liegen bei 1,3 bzw. 1,6. Völlig anders verhielt sich dagegen die β -Carotin Präparation, die entsprechenden Faktoren betragen 1,9 bzw. 0,8.

Tab. 8: Titerbestimmung (nach CAVALLI-SFORZA, 1969), Varianztabelle Versuch I

Variabilitäts- ursache	Summe der Abweichungs- quadrate	FG	Varianz	F	P
Regression	14.133.303	2	706.665,2	192,38	<0,001
Abweichung von der Regression	241.174	3	80.391,3	2,19	>0,05
Innerhalb der Dosen (= Versuchsfehler)	5.436.572	148	36.733,6		
Gesamt	19.811.049	153			

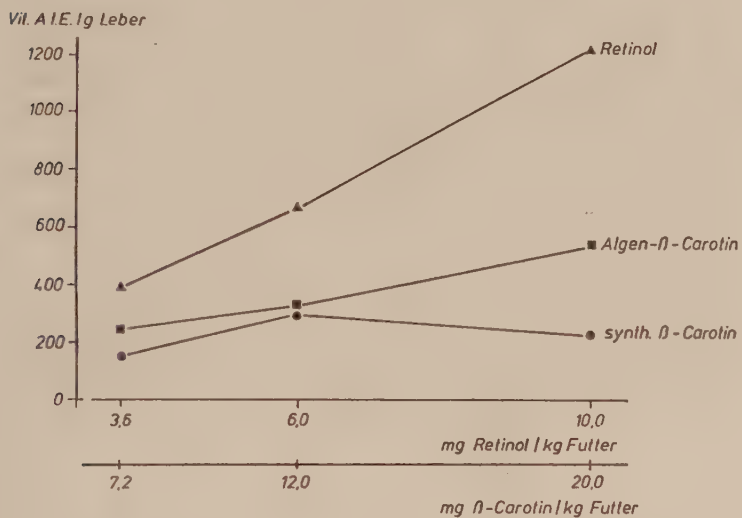
Bei der relativen Wertbestimmung von Dunaliella-Carotin gegen Vitamin A (nach CAVALLI-SFORZA, 1969) ist eigentlich ein Titer von maximal 1 erwartbar, da die Dosierung von Vitamin A und β -Carotin im Futter auf Gewichtsbasis im Verhältnis 2 mg β -Carotin : 1 mg Vitamin A wirkungsäquivalent vorgenommen wurde (bei Geflügel: 0,3 μ g Retinol = 0,6 μ g β -Carotin = 1 I.E. Vitamin A).

Die Titerbestimmung (auf Basis der analytischen Futterkonzentrationen) ergab einen Wert von 0,476, d.h. die im Versuch eingesetzten Konzentrationen an β -Carotin aus Dunaliella-Algen waren gegenüber den vergleichbaren Vitamin A-Konzentrationen nur zu 47,6% wirksam. Bezogen auf Gewichtsäquivalenz ergibt der vorliegende Leberspeichertest ein Umwandlungsverhältnis von Dunaliella β -Carotin zu Vitamin A wie 1,26 μ g β -Carotin : 0,3 μ g Retinol. Für die biologische Wirkung einer I.E. Vitamin A aus Dunaliella-Carotin (1,26 μ g = 1 I.E. Vitamin A) ergab der statistische Test einen 95%igen Konfidenzbereich von 1,10-1,47.

Eine Wertbemessung für die β -Carotin Präparation wurde nicht vorgenommen, weil offensichtlich keine Linearität besteht und die Varianzanalyse die Interaktion Quelle x Dosierung als signifikant auswies (s. Tab. 7).

In Abb. 5 wird das Ergebnis des Leberspeichertests noch einmal veranschaulicht, wobei hier die Futterkonzentration mit den pro g Leber gespeicherten Mengen an Vitamin A verglichen wird.

Abb. 5: Abhängigkeit der Vitamin A-Leberspeicherung
von der Vitaminzufuhr über das Futter
Versuch I



3.3 Versuch II (Dunaliella-Hühnerküken)

3.3.1 Versuchsplan

Männliche Hühnereintagsküken erhielten in der Vorperiode über 3 Wochen Vitamin A-Depletionsfutter. Es folgten 10 Tage Versuchsperiode (1.4.- 10.4.1985), zu deren Beginn 9 annähernd gewichtsgleiche Gruppen mit je 4 x 7 Tieren gebildet wurden. Diese Gruppen wurden nach Zufall auf die Rationsgruppen verteilt. Der Versuchsplan ist aus Tab. 9 ersichtlich.

Nach Ende der Depletionsperiode zeigten ca. 20% der Küken Vitamin A-Mangelercheinungen. Zu Versuchsende wurden Futterverzehr, Lebendmasse, sowie das Gewicht der Leber festgestellt. Die Lebern wurden tiefgefroren bis zur Vitamin A-Analyse aufbewahrt.

Tab. 9: Versuchsanlage
Versuch II

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Vit. A 1) (mg Ret./kg)	3,6	6,0	10,0	---	---	---	---	---	---
β -Carotin 2) (mg/kg)	---	---	---	7,2	12,0	20,0	---	---	---
Algen- β -Ca- rotin (mg/kg)	---	---	---	---	---	---	7,2	12,0	20,0
Tierzahl	28	28	28	28	28	28	28	28	28
Wieder- holungszahl	4	4	4	4	4	4	4	4	4

1) Lutavit von der Firma BASF, Ludwigshafen

2) Rovimix von der Firma Hoffmann-La Roche, Basel

3.3.2 Rationszusammensetzung

Den Vitamin A-armen Rationen der Depletionsperiode (Tab. 10) wurden die sich aus der Versuchsanlage ergebenden Vitamin A- bzw. β -Carotin-Mengen auf Kosten von Maisstärke zugesetzt.

Die verwendete Dunaliella-Alge enthielt analytisch 0,4% β -Carotin.

Das Futter wurde in Mehlform angeboten.

Tab. 10: Rationszusammensetzung (%)
Versuch II

Sojafeinmehl	40,00
Sojaschrot	20,00
DL-Methionin	0,40
Glycin	1,00
CaHPO ₄ x 2 H ₂ O	1,30
K ₂ HPO ₄	1,00
Na ₂ HPO ₄	0,50
NaCl	0,30
CaCO ₃	1,73
MgSO ₄ x H ₂ O	0,80
Zellulose	2,00
Vitamin-VM (A-arm) 1)	0,50
Spurenelement-VM 2)	0,10
Maisstärke	18,37
Sojaöl	12,00

- 1) Vitaminvormischung s. Tabellenanhang, Tab. a
2) Spurenelementvormischung s. Tabellenanhang, Tab. b

3.3.3 Ergebnisse

Tab. 11 gibt den tatsächlichen Gehalt an Vitamin A und β -Carotin im fertig gemischten Futter wieder.

Die Futteranalysen ergaben eine Abweichung vom Sollgehalt bei den Vitamin A-Rationen um durchschnittlich 9%, bei β -Carotin um 6% und bei Dunaliella-Carotin um 5%.

Tab. 11: Futteranalysen
Versuch II

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Vitaminquelle	Vitamin A (mg Ret./kg)			β-Carotin (mg/kg)			Algen-β-Carotin (mg/kg)		
Soll-Gehalt	3,6	6,0	10,0	7,2	12,0	20,0	7,2	12,0	20,0
Ist-Gehalt	3,3	5,5	8,9	7,0	10,9	18,6	7,2	11,2	18,4

Die Vitamin-Konzentration im Futter stieg innerhalb der Vitamin A-Rationen im Mittel um den Faktor 1,64, innerhalb der β-Carotin-Rationen um 1,56 und bei den Dunaliella-Rationen um 1,60 an (Sollwert: 1,67).

Tab. 12: Lebendmassezunahme, Futterverzehr (Mittelwerte mit Standardabweichung s bzw. Spannweite R), LM bei VB 364 g
Versuch II

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Vitaminquelle	Vitamin A (mg Ret./kg)			β-Carotin (mg/kg)			Algen-β-Carotin (mg/kg)		
Dosierungen	3,6	6,0	10,0	7,2	12,0	20,0	7,2	12,0	20,0
Tierzahl VB	28	28	28	28	28	28	28	28	28
VE	27	28	28	26	26	27	28	24	26
Wiederholungszahl	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Lebendmassezunahme (g)	296	284	314	303	278	285	286	308	294
± s	142	86	79	117	85	135	125	115	89
Futterverzehr pro Tier (g)	587	520	564	537	551	540	528	560	530
R *	106	83	107	96	34	94	124	83	23

R * Der Futterverzehr konnte jeweils nur für die Tiere eines Käfigs errechnet werden

LM = Lebendmasse , VB = Versuchsbeginn , VE = Versuchsende

Zu Versuchsbeginn betrug die durchschnittliche Lebendmasse der Hühnerküken 364 g. Der Futterverzehr sowie die Lebendmassezunahme im Versuchszeitraum sind in Tab. 12 wiedergegeben. Zunahmen und Futterverzehr aller Gruppen waren in etwa gleich ausgefallen.

Die durch Leberanalysen festgestellten Ergebnisse sind in Tab. 13 zusammengefaßt. Die Leberuntersuchung von 10 zu Versuchsbeginn geschlachteten Tieren ergab einen Vitamin A-Gehalt von 6 I.E./g Leber.

Bei den Vitamin A-Werten, die sich auf g Leber bzw. auf Lebergesamtgewicht beziehen, ist festzustellen, daß die höchsten Speicherwerte wie in Versuch I auch hier bei den Vitamin A-Rationen (1), (2) und (3) vorkommen. Beide β -Carotin-Quellen zeigen nur geringfügige Unterschiede in den Speicherraten und Speicherindices.

Tab. 13: Vitamin A-Gehalt der Leber (Mittelwerte mit Standardabweichung s bzw. Spannweite R)
Versuch II

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Vitaminquelle	Vitamin A (mg Ret./kg)			β -Carotin (mg/kg)			Algen- β -Carotin (mg/kg)		
Dosierungen	3,6	6,0	10,0	7,2	12,0	20,0	7,2	12,0	20,0
Probenzahl	27	28	28	26	26	27	28	24	26
I.E./g Leber	83 ^d	149 ^e	251 ^f	20 ^a	35 ^a	54 ^{bc}	28 ^a	39 ^{ab}	65 ^{cd}
$\pm$ s	24	38	81	7	20	18	11	10	21
I.E./ Leber	1895	3085	5500	457	747	1138	592	889	1414
$\pm$ s	692	926	1822	184	449	382	262	268	432
Speicher- index (%)	29,7	32,5	32,8	7,3	7,4	6,9	9,4	8,5	8,7
R	8,7	4,7	11,1	3,6	5,2	2,7	2,9	3,4	1,8

Werte mit unterschiedlichen Buchstabenindices sind mit $P < 0,05$ voneinander verschieden (Varianzanalyse, Scheffé - Test).

Hinsichtlich der Vitamin A-Leberspeicherung bestehen zwischen der Vitamin A-Quelle und den β -Carotin-Präparationen signifikante Unterschiede. Die beiden β -Carotin-Quellen sind nicht signifikant voneinander verschieden. Mit Vitamin A wurde der höchste (162 I.E. pro g Leber), mit β -Carotin der niedrigste (37 I.E. pro g Leber) Speicherwert erzielt.

Bei den Dosierungen bestehen zwischen allen drei Futterkonzentrationen signifikante Unterschiede. Die niedrigste Vitamin A- bzw. β -Carotin-Dosierung führte zu einem Speicherwert von 43 I.E. pro g Leber, die mittlere zu einem Wert von 77 I.E. pro g Leber, und die höchste Dosierung ergab einen Lebergehalt von 126 I.E. pro g Leber.

Die Interaktion Quelle x Dosierung war signifikant, weil auch hier die Vitaminquellen bei verschiedenen Dosierungen die Speicherwerte unterschiedlich beeinflussten.

Tab. 14: Varianzanalyse
Versuch II

Varianz- ursache	Summe der Abweichungs- quadrate	FG	Varianz	F	P
Vitaminquelle (V)	803.677	2	401.839	350,34	< 0,001
Dosierung (D)	275.430	2	137.715	120,07	< 0,001
Interaktion (V x D)	154.170	4	38.542	33,60	< 0,001
Rest	265.007	231	1.147		
Gesamt	1.498.284	239			

Tab.15: Titerbestimmung (nach CAVALLI-SFORZA, 1969), Varianztabelle Versuch II

Variabilitäts- ursache	Summe der Abweichungs- quadrate	FG	Varianz	F	P
Regression	1.039.874	2	519.937	326,53	<0,001 *
Abweichung von der Regression	1.929	3	642,9	0,404	>0,25
Innerhalb der Dosen (=Versuchsfehler)	248.394	156	1.592,3		
Gesamt	1.290.197	161			

* F (P<0,25): 1,37

Bei der relativen Wertbestimmung von β -Carotin gegen Vitamin A (nach CAVALLI-SFORZA, 1969, Tab. 15) ergab sich ein Titer von 24,3% (Vertrauensbereich 16,4 - 32,1%). Das Umwandlungsverhältnis von β -Carotin zu Vitamin A lag bei 2,47 μg β -Carotin : 0,3 μg Retinol.

Tab. 16: Titerbestimmung (nach CAVALLI-SFORZA, 1969), Varianztabelle Versuch II

Variabilitäts- ursache	Summe der Abweichungs- quadrate	FG	Varianz	F	P
Regression	972.562	2	486.281	306,16	<0,001 *
Abweichung von der Regression	1.813	3	604,4	0,381	>0,25
Innerhalb der Dosen (=Versuchsfehler)	246.181	155	1.588,3		
Gesamt	1.220.556	160			

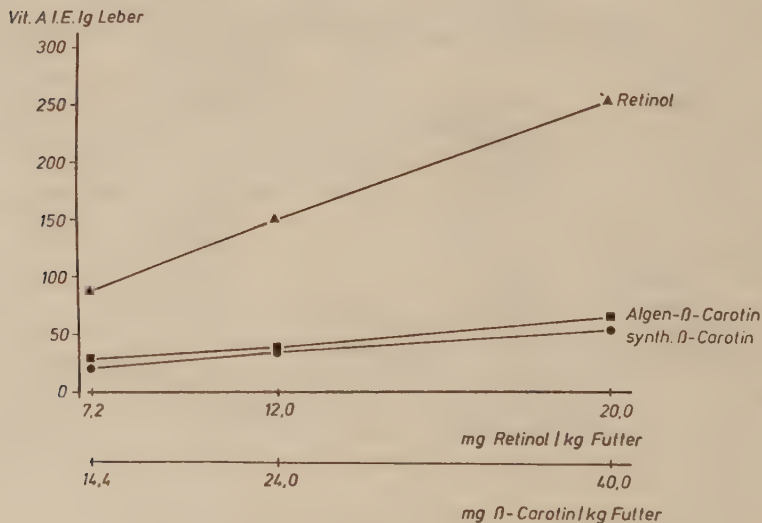
* F (P<0,25): 1,37

Die entsprechenden Ergebnisse für Dunaliella-Carotin sind durchaus mit den Resultaten von synthetischem β -Carotin vergleichbar (Tab. 16). Der Algen-Carotin Titer lag bei 0,284, d.h. Carotin aus der Alge Dunaliella war gegenüber Vitamin A zu 28,4% verfügbar.

Für den 95%igen Konfidenzbereich war der Maximalwert 36,2%, der Minimalwert 20,6%. Bezogen auf Gewichtsäquivalenz resultiert aus den Leberspeichertests ein Umwandlungsverhältnis von Algen-Carotin zu Vitamin A wie 2,11 μg β -Carotin zu 0,3 μg Retinol.

Abb. 6 stellt den Zusammenhang zwischen Vitamin A-Konzentration im Futter und den Leberspeicherwerten graphisch dar.

Abb. 6: Abhängigkeit der Vitamin A-Leberspeicherung
von der Vitaminzufuhr über das Futter
Versuch II



3.4 Versuch III (SCP-Geflügelversuch)

3.4.1 Versuchsplan

Männliche Eintagsküken erhielten nach 25 Tagen Vorperiode 50 000 I.E. Vitamin A pro kg Futter. Die Vorperiode (21.10. - 10.11.1984) war unterteilt in 4 Tage Anfütterung ohne Vitamine und Spurenelemente, 11 Tage Vitamin A-armes Futter und 10 Tage Futter mit Vitamin A-Säure-Zusatz (1 mg/kg), da sich nach 15 Tagen bereits Vitamin A-Mangelsymptome gezeigt hatten.

Die anschließende Versuchsperiode dauerte 7 Tage (10.11. - 17.11.1984). Zu Versuchsbeginn wurden wieder 4 x 7 Tiere pro Ration annähernd gewichtsgleich eingeteilt. Die vier Rationen unterschieden sich im Eiweißanteil. Einer Sojakontrollgruppe standen drei SCP-Rationen gegenüber. Eine Ration enthielt Probion (mit Wasserstoffperoxid behandeltes SCP), eine andere nucleasebehandel-

Tab. 17: Versuchsanlage
Versuch III

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)
Proteinquelle	Soja	Probion	SCP	SCP
Behandlung	---	Peroxid	Nuclease	nucl.-arm
Vitamin A (I.E./kg Futter)	50000	50000	50000	50000
Tierzahl	28	28	28	28
Wieder- holungszahl	4	4	4	4

tes SCP (Ausgangsprodukt Probion) und die letzte ein nucleasebehandeltes nucleinsäurearmes Produkt (ebenfalls aus Probion gewonnen).

Tiere, Dünndarm und Lebern wurden zu Versuchsende gewogen, außerdem die Dünndarmlänge gemessen und der Vitamin A-Gehalt der Leber analysiert.

In Tab. 17 ist die Versuchsanlage wiedergegeben.

3.4.2 Rationszusammensetzung

Über die Futterzusammensetzung der Vorperiode informiert Tab. 18.

Während der folgenden 21 Tage erhielten die Tiere das Vitamin A-arme Futter der Soja-Kontrollgruppe, dem nach 10 Tagen Fütterung Vitamin A-Säure (1 mg/kg) zugemischt wurde. Im Versuchszeitraum wurde Vitamin A auf Kosten von Maisstärke zugesetzt. Die Eiweißquelle wurde, wie im Versuchsplan angegeben, variiert.

Tab. 18: Rationszusammensetzung Vorperiode (%)
4 Tage Anfütterung
Versuch III

Mais	58,6
Soja	35,0
Sojaöl	3,0
CaHPO ₄ x 2 H ₂ O	2,0
CaCO ₃	1,0
NaCl	0,4

In der Versuchsperiode, zu deren Beginn 4 annähernd gewichtsgleiche Gruppen zu je 4 x 7 Tieren gebildet wurden, erhielt die Kontrollgruppe (1) das Futter der Vorperiode, lediglich mit einem Anteil von 50 000 I.E. Vitamin A pro kg Futter. Die 3 anderen Rationen enthielten SCP's verschiedener Behandlung als alleinige Proteinquelle. Der Vitamin A-Zusatz betrug auch hier 50 000 I.E./kg Futter (Tab. 19).

3.4.3 Ergebnisse

Die Lebendmasse der Hühnerküken zu Versuchsbeginn betrug 815 g. 6 zu Versuchsbeginn geschlachtete Küken wiesen einen durchschnittlichen Vitamin A-Gehalt in der Leber von 9 I.E pro g Leber auf. Der Vitamin A-Gehalt wurde im

Tab. 19: Rationszusammensetzung (%)
Versuch III

Sojafeinmehl	29,26
Isol. Sojaprotein	22,36
DL-Methionin	0,45
Glycin	0,65
Sojaöl	7,00
Maisstärke	26,86
Vitamin-VM 1)	1,00
Spurenelement-VM 2)	0,10
CaCO ₃	0,20
CaPO ₄ x H ₂ O	6,67
MgO	0,20
NaCl	0,40
KCl	0,08
Polyethylen , gemahlen 3)	4,27
Ca-Propionat	0,50

- 1) Vitaminvormischung s. Tabellenanhang, Tab. d
- 2) Spurenelementvormischung s. Tabellenanhang, Tab. c
- 3) Lupolen der Firma BASF, Ludwigshafen

fertig gemischten Futter untersucht. Tab. 20 vermittelt eine Übersicht über die Futteranalysen.

Der Ist-Gehalt des Futters lag zwischen 6% (Ration 4) und 10% (Ration 2) unter dem Soll-Gehalt.

Tab. 21 gibt die Tier- und Organgewichte der Küken, bezogen auf die verabreichte SCP-Ration, wieder (GROPP & STADLER, 1984).

Vergleicht man die Dünndarmlängen und -gewichte in Tab. 21, so kann man feststellen, daß die Werte in der Sojakontrollgruppe und der Ration (4) (nucleinsäurearmes SCP-Produkt) annähernd gleich sind. Aus Tab. 22 geht hervor, daß Ration (1) wesentlich höhere Vitamin A-Gehalte in der Leber aufweist als z.B. Ration (4). Das heißt aber letztlich, daß die unterschiedliche Vitamin A-Aufnahme nichts mit einer Dünndarmverdickung zu tun hat. Diese Ergebnisse stimmen daher mit Daten von FUCHS (1983) überein.

Tab. 20: Futteranalysen
Versuch III

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)
Proteinquelle	Soja	Probion	SCP	SCP
Behandlung	-	Peroxid	Nuclease	nucl.-arm
Soll-Gehalt Vitamin A (I.E/kg Futter)	50000	50000	50000	50000
Ist-Gehalt	46100	45000	45900	47200

Tab. 21: Tier- und Organgewichte (GROPP & STADLER, 1984)
Versuch III

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)
Proteinquelle	Soja	Probion	SCP	SCP
Behandlung	----	Peroxid	Nuclease	nucl.-arm
Tierzahl	28	28	27	28
Lebendmasse (g)	1155	1036	1069	1066
± s	93	84	90	97
Dünndarm (cm)	166,3	188,4	170,2	154,2
± s	14,0	17,7	13,3	14,7
Dünndarm (cm 100/g LM) ± s	14 1	18 2	16 1	15 2
Dünndarm (g)	28,88	40,67	37,10	26,22
± s	4,76	8,65	7,36	4,85
Dünndarm (% der LM) ± s	2,5 0,4	4,0 0,9	3,5 0,7	2,5 0,5
Dünndarm (mg/cm)	174	216	218	170
Leber (g)	38,89	27,00	39,06	42,33
± s	5,80	4,80	6,30	7,59
Leber (% der LM)	3,4	3,6	3,7	4,0
± s	0,5	0,4	0,6	0,6

LM = Lebendmasse

Die Leberanalysen auf Vitamin A sind aus Tab. 22 ersichtlich.

Tab. 22: Vitamin A-Gehalt der Leber
Versuch III

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)
Proteinquelle	Soja	Probion	SCP	SCP
Behandlung	---	Peroxid	Nuclease	nucl.-arm
Vitamin A (I. E./kg Futter)	50000	50000	50000	50000
I. E./g Leber	196	71	53	68
+ s	63	47	25	29
(Relation)	(100)	(36)	(27)	(35)
I. E./Leber	7436	2675	2074	2800
+ s	2118	1984	983	1210
(Relation)	(100)	(36)	(28)	(38)

3.5 Versuch IV (Legewachtelversuch)

3.5.1 Versuchsplan

Einer 3-wöchigen Vitamin A-Depletion (9.2.-2.3.1987) schloß sich eine 11-tätige Versuchsperiode (2.3.-13.3.1987) an. Je 12 Tiere (3/Käfig) erhielten die gleiche Ration. Die Legewachteln waren bei Versuchsbeginn ca. 8 Monate alt und wurden den Zuchtkolonien entnommen. Die Eiweißquelle bei Ration (1) bis (6) war Soja, bei Ration (7) ein SCP-Produkt. Den ersten 3 Rationen wurde Vitamin A in steigender Dosierung (Faktor 2) zugesetzt, bei den anderen Rationen war β -Carotin die Vitamin A-Grundlage.

An den Tagen 1, 7, 14, 17 und 21 der Vorperiode wurden die Eier gesammelt und gewogen. Das Gewicht, der Retinolgehalt, und die Farbe des Eidotters wurden bestimmt.

Zu Versuchsbeginn wurden 6 Wachteln getötet und die Lebern auf Vitamin A untersucht.

Während der Versuchsperiode, zu der die Tiere nach Legeleistung eingeteilt waren, wurden die Eier jeden 2. Tag gesammelt. Zur Analyse wurden die Eidotter käfigweise gepoolt. Von je 8 Wachteln pro Gruppe wurde zu Versuchs-ende Vitamin A in der Leber bestimmt.

Die Versuchsanlage des Legewachtelversuches ist in Tab. 23 zusammengefaßt.

Tab. 23: Versuchsanlage
Versuch IV

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Retinol (mg/kg)	3	6	12	---	---	---	---
β -Carotin (mg/kg)	---	---	---	6	12	24	12
Proteinquelle	Soja	Soja	Soja	Soja	Soja	Soja	SCP
Tierzahl	12	12	12	12	12	12	12
Wieder- holungszahl	4	4	4	4	4	4	4

3.5.2 Rationszusammensetzung

Über die Rationszusammensetzung gibt Tab. 24 Auskunft.

Zu Versuchsbeginn wurden die Rationen (1), (2) und (3) mit Vitamin A, die Rationen (4),(5) und (6) mit moläqui-

Tab. 24: Rationszusammensetzung (%)
Versuch IV

Sojafeinmehl	25,0
Isol. Sojaprotein	15,0
DL-Methionin	0,3
Glycin	0,5
Maisstärke	42,6
Zellulose	2,0
NaCl	0,4
CaCO ₃	6,0
Dicalciumphosphat	2,0
Spurenelement-VM 1)	0,2
Cholinchlorid	0,3
Vitamin-VM (A-arm) 2)	0,2
Sojaöl	5,0
Ca-Propionat	0,5

1) Spurenelementvormischung s. Tabellenanhang, Tab. f

2) Vitaminvormischung s. Tabellenanhang, Tab. e

valenten Mengen β -Carotin entsprechend dem Versuchsplan auf Kosten von Maisstärke ergänzt.

In Ration (7) wurden 15% isoliertes Sojaprotein durch argininergänzt (0,25%) SCP (HT 381) rohproteinäquivalent ausgetauscht. Der β -Carotin-Zusatz entsprach der Dosierung von Ration (5).

3.5.3 Ergebnisse

Der Vitamin A- bzw. β -Carotin-Gehalt wurde im fertig gemischten Futter untersucht. Tab. 25 gibt eine Übersicht über die Analysenergebnisse.

Die Futteranalysen ergaben einen Ist-Gehalt, der bei den Vitamin A-Rationen durchschnittlich um 8% unter dem Soll-Gehalt, bei den β -Carotin-Rationen um 6% darunter lag. Der Steigerungsfaktor war annähernd 2.

Nach der 3-wöchigen Depletionsperiode wiesen die Lebern von zehn zu Versuchsbeginn geschlachteten Wachteln im Durchschnitt noch 681 I.E. Vitamin A pro g Leber auf. Aus anderen Versuchen ist bekannt, daß die Wachteln der

Tab. 25: Futteranalysen
Versuch IV

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Vitaminquelle Ret. (mg/kg)	Ret.	Ret.	Ret.	β -C.	β -C.	β -C.	β -C.
Soll-Gehalt	3	6	12	6	12	24	12
Ist-Gehalt	2,8	5,6	10,9	5,8	11,2	22,7	11,0

institutseigenen Koloniezucht bei normaler Fütterung ca. 3000 I.E. Vitamin A pro g Leber enthalten. So ist es nicht verwunderlich, daß nach 3-wöchiger Depletion noch ein relativ hoher Leberwert nachzuweisen ist. Die Ergebnisse der Leberanalysen zu Versuchsende sind aus Tab. 26 ersichtlich.

Insgesamt bestätigen sich auch in diesem Versuch die Ergebnisse der anderen Versuche. Die Tiere mit Vitamin A-Rationen speicherten jedoch nur in Ration (3) mehr Vitamin A als in der höchsten β -Carotin-Ration. Beachtenswert ist noch, daß Tiere aus Gruppe 7 keine Veränderung im Leber-Vitamin A-Gehalt aufwiesen, verglichen mit den Werten zu Versuchsbeginn.

Tab. 26: Vitamin A-Gehalt der Leber
Versuch IV

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)1)
Vitamin- quelle	Ret.	Ret.	Ret.	β -Car.	β -Car.	β -Car.	β -Car.
Dosierungen (mg/kg)	3	6	12	6	12	24	12
Probenzahl	8	8	8	8	8	8	8
I.E./g Leber	712	972	1122	747	893	1057	681
$\pm$ s	320	284	426	338	490	416	348
I.E./Leber	4453	4971	7050	4717	5766	6147	3268
$\pm$ s	1720	1738	1484	2434	3143	3352	1481

1) mit 15 % SCP

Die Legeleistung der Wachteln ist in Tab. 27 wiedergegeben.

In der Vorperiode (Vitamin A-armes Futter) ergaben die Eidotteranalysen in drei Wochen einen Abfall der Retinolkonzentration von 1045 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ Eidotter auf 603 μg .

Die Ergebnisse der Versuchsperiode veranschaulicht Tab. 28. Hier erreichten die Tiere mit zugesetztem Vitamin A im Futter die höchsten Retinolwerte im Dotter. Die Gruppen mit β -Carotin Zusatz zeigten die schlechteren Ergebnisse. Auffallend ist noch, daß die SCP-Ration, die mit der mittleren Sojaproteingruppe (5) vergleichbar ist niedrigere Retinolgehalte im Dotter aufwies.

Tab. 27: Legeleistung
Versuch IV

Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7) 1)
Tierzahl VB	12	12	11	12	11	11	11
Tierzahl VE	11	11	10	11	11	11	11
Ei/Wachtel u. Tag (%)	69	67	75	74	74	70	79
Eigewicht 2) (g)	11,0 0,8	10,7 1,2	11,4 0,9	11,3 0,9	10,7 1,1	11,3 0,9	11,0 0,9
Dotter- gewicht 2) (g)	3,69	3,57	3,82	3,71	3,46	3,67	3,63

1) mit 15% SCP

2) Mittel aus Bestimmungen an jedem 2. Tag

VB = Versuchsbeginn

VE = Versuchsende

Tab. 28: Retinolgehalt im Eidotter ($\mu\text{g}/100 \text{ g}$ Eidotter)
Durchschnittswert von je 4 Proben mit Spannweite R
Versuch IV

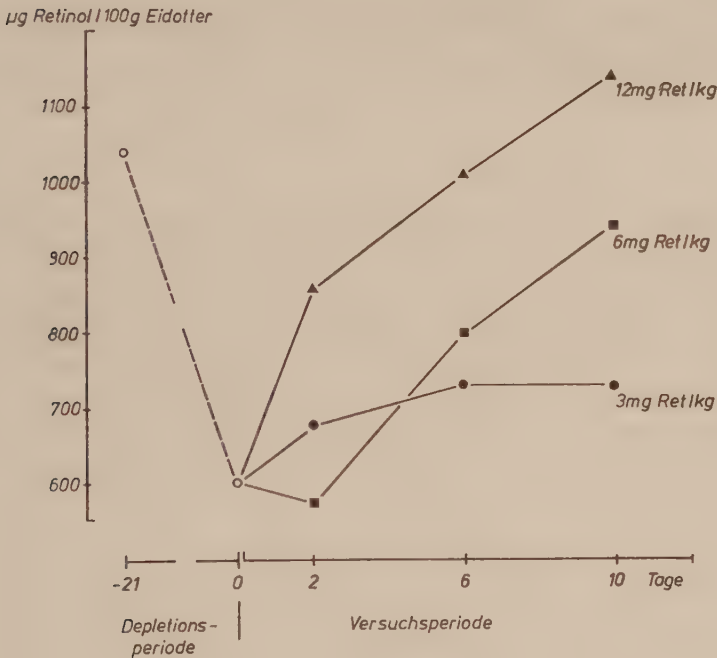
Ration	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
1.Tag	668 464	581 376	810 557	496 306	697 461	670 361	551 339
3.Tag	683 441	565 319	912 594	555 263	664 562	675 473	582 251
5.Tag	705 516	727 437	895 555	572 279	675 515	641 445	595 218
7.Tag	754 456	863 441	1127 465	646 183	645 371	622 362	612 346
9.Tag	732 389	905 187	1099 316	630 267	662 347	689 381	580 267
11.Tag	725 209	979 307	1192 279	645 229	729 308	723 307	637 244

Somit resultieren aus höheren Vitamin A-Futtermgaben höhere Retinolwerte im Eidotter, genauso wie höhere Leberspeicherraten.

Wie im Versuchsplan schon erwähnt, wurde die Farbe des Eidotters während der Vor-, als auch in der Versuchsperiode mit dem Roche-Dotterfarbfächer bestimmt (niedrigster Wert 1, höchster Wert 15). Zu Beginn der Vorperiode konnte man die Farbe der Eidotter zwischen 4 und 5 einstufen, nach 1 Woche wurden Werte zwischen 2 und 3 erreicht, und nach 2 Wochen bis zum Versuchsende war der Skalenwert nur noch 1. Diese Ergebnisse entsprechen durchaus den Erwartungen, da weder Retinol noch β -Carotin einen Einfluß auf die Eidotterfarbe haben, die Zufuhr von farbgebenden Carotinoiden aus der Futtermischung aber vernachlässigbar gering gewesen sein dürfte.

Faßt man die Retinolwerte sämtlicher Rationsgruppen zusammen und betrachtet den Abfall der Werte in der Depletionsperiode und den Wiederanstieg im Versuchszeitraum, so ergibt sich graphisch folgendes Bild (Abb. 7):

Abb. 7: Abhängigkeit des Dotterretinolgehaltes von der
Vitaminzufuhr durch das Futter
Versuch IV



Vergleicht man die Leberspeicherwerte der Vitamin A-Gruppen mit denen der β -Carotingruppen (4)-(6) mittels des in den Versuchen I und II angewandten Verfahrens (Abweichung: Lebergehalt Vitamin A Versuchsende - Wert zu Versuchsbeginn als Parameter), so ergäbe sich hier Wirkungsäquivalenz für $0,7 \mu\text{g } \beta\text{-Carotin} = 0,3 \mu\text{g Retinol}$ (= 1 I.E. Vitamin A). Hierbei bleibt allerdings unberücksichtigt, daß steigende Vitamin A-Gaben zu einer erhöhten Dotterausscheidung von Vitamin A führten, in den entsprechenden β -Carotingruppen auch bei Versuchsende der zu Versuchsbeginn gemessene Eidotterwert kaum überschritten wurde (Tab. 23). Insgesamt gesehen dürfte deshalb auch in diesem Versuch β -Carotin zu einer wesentlich geringeren Rate als oben errechnet in Vitamin A umgewandelt worden sein.

4 DISKUSSION

- 4.1 Umwandlung von β -Carotin zu Vitamin A
 - 4.1.1 Retinol aus β -Carotin im Eidotter
 - 4.1.2 Verwertbarkeit von Dunaliella-Carotin
- 4.2 Single Cell Protein (SCP) und Vitamin A-Utilisation
 - 4.2.1 Einfluß von SCP auf die Vitamin A-Leberspeicherung
 - 4.2.2 Einfluß von SCP auf die Umwandlung von β -Carotin

Bei wachsendem Geflügel sind Leberspeichertests, wie hier in den Versuchen I, II und III durchgeführt, gute Indikatoren der Vitamin A-Versorgung in der auf eine Depletion folgenden Periode. Offensichtlich wurden Futterdosierungen und Zeitdauer von Depletion und Versuch richtig gewählt, da eine direkte Proportionalität zwischen der Vitamin A-Konzentration im Futter und in der Leber bestand.

4.1 Umwandlung von β -Carotin zu Vitamin A

Da sich in Versuch II (Dunaliella - Hühnerküken) keine grundsätzlichen Unterschiede zwischen β -Carotin synthetischer Herkunft und aus der Alge Dunaliella ergaben, werden im folgenden die β -Carotin-Ergebnisse gemeinsam betrachtet. Hiervon ausgenommen werden die Resultate aus den β -Carotin-Gruppen (4)-(6) in Versuch I. Über den gesamten Dosisbereich ergab sich hier, wie auch schon in früheren Versuchen mit derselben Präparation (GROPP, 1983), keine klare Dosiswirkungsbeziehung. Die Ursache hierfür könnte wahrscheinlich in inhomogener Verteilung ebenso wie in einer geringeren Verfügbarkeit liegen, die beide wieder mit der galenischen Formulierung zusammenhängen dürften.

In den Wachtel- und Mastgeflügelversuchen wurden aus Leberspeicherwerten Umwandlungsverhältnisse von β -Carotin zu Vitamin A von 12 bis 24%, bezogen auf die Gewichtsbasis, erreicht. Der nach TIEWS (1965) erwartbare Wert liegt dagegen bei 50%, d.h. in unseren Versuchen war die Transformation 2 bis 4-fach geringer. Gründe für die unterschiedlichen Umwandlungsraten sind vielfältig. Alle Faktoren der Versuchsanordnung, insbesondere Tiermaterial, Depletionsstand, Testverfahren und Testpräparate können den Faktor beeinflussen. Die heutigen β -Carotin-Präparationen sind wahrscheinlich stabiler als früher. Wenn bei der Formulierung die Stabilität als vorrangiges Ziel betrachtet wird, kann die Bioverfügbarkeit eingeschränkt sein.

Es ist bekannt, daß β -Carotin um so schlechter in Vitamin A umgewandelt wird, je höher es dosiert und je länger es verabreicht wird. Diese Faktoren scheinen hier kaum einen Einfluß gehabt zu haben, wenn Mastgeflügel-

und Wachtelversuch in ihren Endaussagen miteinander verglichen werden. Bei den Wachtelversuchen ergab sich ein Umwandlungsverhältnis von 24% gegenüber nur 12 bis 14% bei den Mastküken. Die Versuchsdauer betrug bei den Wachteln 14 Tage, für den Geflügelversuch nur 10 Tage bei halber Vitamin A- (und entsprechender β -Carotin-) Dosierung im Futter. Insofern hätte bei den Wachteln eher das niedrigere Transformationsverhältnis erwartet werden können. Die Versuchsergebnisse belegen aber das Gegenteil. Da eine versuchsbedingte Variation in der Bestimmung des Umwandlungsverhältnisses in der hier vorliegenden Größenordnung trotz bestehender Unterschiede in der Versuchsanlage für unwahrscheinlich gehalten wird, müssen zur Erklärung der Versuchsergebnisse auch Speciesunterschiede herangezogen werden. Entsprechende Daten aus Wachtelversuchen, die als Vergleich dienen könnten, liegen aber nicht vor.

Allgemein gilt für Geflügel ein Umwandlungsverhältnis (auf Gewichtsbasis) β -Carotin : Retinol wie 2 : 1. Je höher aber die β -Carotin-Konzentration im Futter ist, desto weniger β -Carotin wird in Retinol umgewandelt. Die Transformationsrate kann sich bis zu 10 : 1 verändern (THOMPSON, 1975).

Aus Leberspeichertests an Legewachteln wurde eine Umwandlungsrate von 2,3 Gewichtseinheiten β -Carotin zu 1 Gewichtseinheit Retinol ermittelt. Diese Resultate sind aber nicht repräsentativ, da Vitamin A bei bestehender Legeleistung in nicht unerheblichem Maße über den Dotter als Retinol abfließt. Dies geschieht bei β -Carotin-Fütterung deutlich geringer als bei Vitamin A im Futter.

4.1.1 Retinol aus β -Carotin im Eidotter

Die Lebern der zu Beginn des Legewachtelversuches (IV) geschlachteten Tiere wiesen trotz dreiwöchiger Depletion immer noch einen Vitamin A-Gehalt von 681 I.E./g auf. Im Gegensatz dazu waren bei den Küken von Versuch I und II nur noch 11 bzw. 6 I.E./g Leber nachweisbar. Die Tiere für Versuch IV wurden der Koloniewachtelzucht entnommen, die aus Sicherheitsgründen höher als notwendig mit Vitamin A versorgt wurde. Ohne Depletion wurden bei Tieren der Koloniezucht ca. 3000 I.E./g Leber gemessen, die doch als ein eher bedenkliches Anzeichen einer Vitamin A-Übersorgung gelten müssen. Diese Konzentration von 3000 I.E. ist offensichtlich Ausdruck einer Fehlmischung, da bei der Dosierung von 3,6 mg Retinol/kg Koloniewachtelfutter derart hohe Werte nicht erwartet werden können.

Die gemessenen Leberspeicherwerte sind jedenfalls nur unter Berücksichtigung des relativ höheren Ausgangswertes zu beurteilen.

Retinol im Dotter korreliert gut mit der Vitamin A-Versorgung über das Futter (Abb. 7). Dagegen ist eine Abhängigkeit von Dotterretinol zu β -Carotin im Futter nicht erkennbar. In allen 3 β -Carotin-Gruppen wurde bei β -Carotin-Fütterung eine höhere Retinolkonzentration im Dotter als nach Depletion und auch ein verhältnismäßig geringes Ansteigen der Eidotterkonzentration gemessen. Retinol gelangt aus der Leber in das Plasma, von dort in den Dotter. Dennoch weisen Leberspeicher- und Dotterwerte bei β -Carotin-Fütterung keine Beziehung zueinander auf.

4.1.2 Verwertbarkeit von Dunaliella-Carotin

Die Ergebnisse der Leberspeichertests an Mastgeflügel erlauben den Schluß, daß Dunaliella-Carotin sich nach oraler Aufnahme nicht anders als synthetisches β -Carotin verhält. Auch hinsichtlich der Bioverfügbarkeit scheinen keine Unterschiede zu bestehen.

Offensichtlich ist aber das Algen-Carotin instabil. Laut Angabe der Hersteller soll Dunaliella ca. 4% β -Carotin enthalten haben. Die Analysen für Versuch I ergaben aber nur 2,2%, für Versuch II nur noch 0,4%. Zwischen beiden Versuchen lag ein Zeitraum von etwa 1 Jahr, in dem die Alge tiefgefroren aufbewahrt worden war. Daten aus früheren Versuchen belegen ebenfalls die relativ starke Abnahme des β -Carotin-Gehaltes während Lagerung und Behandlung. Mit Zusendung des Materials wurde damals ein Ausgangsgehalt von 3,4% β -Carotin genannt, nach Erhalt der Algenprobe konnten im Institut nur noch 2,3% bestätigt werden, die nach Lyophilisation und Mahlung auf 1,2% abgefallen waren (GROPP, 1983). Mischtechnische Probleme wie Homogenität oder Einmischen in die Ration sind auf Dauer durch Trocknung und Vermahlung eher lösbar. Eine breite Verwendung von Dunaliella als Carotin-Quelle ist allein von einer geeigneten Methode der Stabilisierung abhängig. Erste Ansätze zur Kommerzialisierung ausreichend stabilisierter Dunaliella-Präparationen sind bereits gegeben (SCHLIPALIUS, 1987).

4.2 SCP

In den Versuchen III und IV wurde als SCP ein aus *Methylomonas clara* gewonnenes Produkt verwendet, das in beiden Versuchen als Rohprodukt und in Versuch III zusätzlich nach unterschiedlicher Behandlung eingesetzt wurde. Die Versuchsrationen von Versuch III waren auf die Prüfung von Nebeneffekten genereller Art ausgerichtet, weil ca. 50% SCP im Futter völlig praxisunüblich und auch unter ungünstigen Umständen nicht erwartbar sind, da das Nährstoffangebot die Bedarfswerte teilweise extrem überschreitet und eine Nährstoffbalance nur schwer herzustellen ist. Für Versuch IV wurde deshalb eine geringere SCP-Konzentration im Futter (15%) verwendet.

4.2.1 Einfluß von SCP auf die Vitamin A-Leberspeicherung

FUCHS (1983) stellte fest, daß bei ca. 50% SCP im Futter (SCP als alleinige Proteinquelle) Vitamin A in geringeren Mengen in der Leber gespeichert wird als bei reinproteinäquivalenten Sojaproteinmengen. Ein vergleichbarer Antivitamincharakter hatte sich früher auch bei Untersuchungen zu Vitamin D zeigen lassen (GROPP et al., 1980). Als Annahme scheint erlaubt, daß diese SCP-Eigenschaft gegen alle fettlöslichen Vitamine gerichtet sein dürfte, zumal auch pigmentgebende Carotinoide betroffen sind (FUCHS, 1983). FUCHS (1983) schloß eine Darmverdikung durch SCP, die mehrfach beschrieben wurde (GROPP et al., 1980, KONRAD, 1983), als Ursache der intestinalen Vitamin-Malabsorption nicht aus.

Betrachtet man das Dünndarmgewicht in Prozent der Lebendmasse (Tab. 21), so kann man feststellen, daß das nucleasebehandelte Rohprodukt (Ration 3) im Vergleich zu SCP (Ration 2) die geringeren Darmverdickungen verursacht. Die Werte von Gruppe (4) mit dem nucleasebehandelten, nucleinsäurearmen Reinprodukt entsprechen mit 2,5% der Lebendmasse sogar exakt den Ergebnissen der Sojakontrollgruppe.

Die Leberspeicherwerte von Vitamin A sind aber davon unbeeinflusst erheblich geringer als in der Kontrollgruppe. Daraus wird geschlossen, daß der Antivitamin A-Faktor im SCP durch Nucleasebehandlung und Nucleinsäureextraktion nicht beeinflusst bzw. zerstört wird. Weiter kann daraus gefolgert werden, daß Darmverdickung und Vitamin A-Malabsorption offensichtlich durch verschiedene Faktoren in SCP hervorgerufen werden.

4.2.2 Einfluß von SCP auf die Umwandlung von β -Carotin

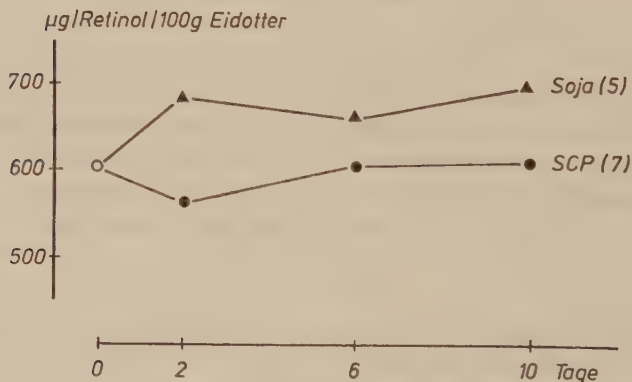
Werden geringere Vitamin A-Leberspeicherwerte tatsächlich durch Malabsorption fettlöslicher Vitamine hervorgerufen, dann müßte durch geringere Anteile von SCP (wie in Versuch IV 15%) im Futter, die in der Regel keine Massenzunahme des Dünndarms bewirken, auch die Absorption von β -Carotin reduziert werden.

Vergleicht man die Leberwerte, so stehen bei gleichen β -Carotin-Konzentrationen im Futter 893 I.E. Vitamin A/g Leber in der Sojagruppe 681 I.E. bei 15% SCP im Futter gegenüber. Dieser Unterschied wird noch deutlicher, wenn man nur die während des Versuchszeitraums gespeicherten Mengen betrachtet. So wurden in 11 Tagen in der Soja-

gruppe 212 I.E. Vitamin A/g Leber gespeichert, in der SCP-Gruppe entsprach die Lebervitamin A-Konzentration bei Versuchsende dem Anfangswert.

Die Vitamin A-Ausscheidung über das Ei ist ein weniger brauchbarer Parameter, da sich eine steigende β -Carotin-Zufuhr (in der Sojaration) im Eidotter als Retinol nicht widerspiegelt (siehe 4.1.1). Dennoch ergibt sich auch bei 15% SCP im Futter im Vergleich zur Sojagruppe der Eindruck einer geringeren Retinolausscheidung über den Eidotter (Abb. 8).

Abb. 8: Dotterretinolgehalt bei unterschiedlicher Proteinquelle in den Rationen (5) und (7)
Versuch IV



Es wird deutlich, daß SCP auch in einer Konzentration von 15% im Legewachtelfutter die β -Carotin-Verwertung beeinträchtigt. Wahrscheinlich ist hier ebenfalls - wie bei Vitamin A - eine Malabsorption als Ursache zu vermuten. Der vorliegende Versuch liefert hierfür allerdings keine unmittelbaren Hinweise.

An insgesamt 252 Hahneneintagsküken einer Mastrasse und 252 Wachtelküken (*Cot. c. japonica*) wurde nach vorangegangener Vitamin A-Depletion die Umwandlung von β -Carotin synthetischer Herkunft und aus *Dunaliella*-Alge in Leber-Vitamin A im Vergleich zu Vitamin A aus dem Futter geprüft. Retinylester diente als futterstabile Vitamin A-Quelle.

Vitamin A (β -Carotin)-Dosierungen im Futter von Wachtelküken bzw. Broilervküken betrugen 7,2; 12,0 und 20,0 (14,4; 24,0 und 40,0) mg bzw. 3,6; 6,0 und 10,0 (7,2; 12,0 und 20,0) mg Retinol (β -Carotin)/kg Futter bei einer Versuchsdauer von 14 bzw. 10 Tagen. Aus einem Vergleich der Leberspeicherwerte ergab sich im Wachtelversuch ein Umwandlungsverhältnis von 1,26 μ g β -Carotin aus *Dunaliella*-Alge zu 0,3 μ g Retinol (1 I.E. Vitamin A), im Broilerversuch von 2,11 μ g β -Carotin aus *Dunaliella*-Alge bzw. 2,47 μ g β -Carotin synthetischer Herkunft zu 0,3 μ g Retinol.

Grundsätzlich erscheint daher die *Dunaliella*-Alge zur Versorgung von Mastgeflügel geeignet, wenn das Problem der unzureichenden Stabilität von β -Carotin in diesem biologischen Material gelöst ist.

In einem 11 Tage-Versuch an Legewachteln beeinflussten Gaben von 6, 12 bzw. 24 mg β -Carotin (synthetisch) im Vergleich zu 3, 6 und 12 mg Retinol/kg Futter die Eidoterausscheidung an Retinol kaum. Hinsichtlich der Leberspeicherung an Vitamin A waren 0,7 μ g β -Carotin wirkungsäquivalent zu 0,3 μ g Retinol.

Single-Cell-Protein (*Methylomonas clara*, auf Methanol gezüchtet) verursacht bei 50% SCP im Futter eine Vitamin A-Malabsorption, die sich in geringeren Leberspeicherindices niederschlägt (196 I.E. Vitamin A/g Leber in der Sojakontrollgruppe, 71 I.E./g in der SCP-Gruppe). SCP-Produktmodifikationen, welche letztlich zu einem gleichen relativen Dünndarmgewicht von Hühnern wie nach Sojaproteinfütterung führen (das Rohprodukt erhöht diesen Parameter um ca. 60%), verbesserten die Vitamin A-Leberspeicherung nicht (Konzentration im Futter: 15 mg Retinol/kg). 15% SCP-Rohprodukt im Legewachtelfutter bewirkten gegenüber der carotinäquivalent versorgten Sojagruppe eine geringere Retinol-Konzentration im Eidotter sowie einen niedrigeren Vitamin A-Leberspiegel.

5.1 SUMMARY

STUDIES ON THE BIOLOGICAL EFFECTS OF PROVITAMIN AND ANTIVITAMIN A IN POULTRY

In a total of 252 one-day-old male broiler chicks and 252 baby quails (*Cot. c. japonica*) the conversion of synthetic and algal (*Dunaliella*) β -carotene to vitamin A was tested after a preceding vitamin A depletion. Retinyl ester was the stable source of dietary vitamin A.

The concentration of vitamin A (β -carotene) in the diet of baby quails and broiler chicks was 7.2, 12.0 and 20.0 (14.4, 24.0 and 40.0) and 3.6, 6.0 and 10.0 (7.2, 12.0 and 20.0) μg retinol (β -carotene) per kg diet, respectively. The comparison of vitamin A liver storage revealed a transformation ratio of 1.26 μg β -carotene from *Dunaliella* alga to 0.3 μg retinol (1 I.U. vitamin A) in quails, and a ratio of 2.11 μg β -carotene from *Dunaliella* and 2.47 μg synthetic β -carotene to 0.3 μg retinol in chicks.

Therefore, *Dunaliella* seems to be suitable as a source of dietary β -carotene for broiler chicks in principle, if the problems of insufficient stability of β -carotene in this biological product can be solved.

In an 11-day-experiment the yolk retinol concentration of laying quails was hardly influenced by 6, 12 and 24 mg (synthetic) β -carotene compared with 3, 6 and 12 mg retinol/kg diet. Regarding the liver storage of vitamin A 0.7 μg β -carotene produced the same effect as 0.3 μg retinol.

50% Single Cell Protein (methanol-grown *Methylobionas clara*) in the diet caused vitamin A malabsorption, leading to lower liver storage indices (196 I.U. vitamin A/g liver in the soy control group, 71 I.U./g in the SCP-group). SCP product modifications, which caused the same relative small intestine weight in chicks as soy protein diet (the row product increased this parameter by about 60%), did not improve the liver storage of vitamin A (diet concentration: 15 mg retinol/kg).

15% SCP row product in the diet of laying quails led to a lower yolk-retinol concentration and to a lower level of liver vitamin A compared with a soy control group supplied with equal β -carotene concentrations.

AASEN, A.J., K.E. EIMJHELLEN and S. LIAAEN-JENSEN (1969)
An extreme source of β -carotene
Acta chem. Scand. 23, 2544-2545

AL-HASANI, S.M., D.B. PARRISH (1972)
Forms of vitamin A and of carotinoids in
tissues, blood serum and yolk of eggs from
Coturnix coturnix japonica fed β -apo-carotenals
J. Nutr. 102, 1437-1440

ANALYSENKOMMISSION DER EWG (1968)
Bestimmung von Carotin in Futtermitteln
Arbeitspapier Nr. 17.383/2/VI/68-D

BEN-AMOTZ, A. and M. AVRON (1973)
The role of glycerol in the osmotic regulation
of the halophilic alga *Dunaliella parva*
Plant Physiol. 51, 875-878

BEN-AMOTZ, A. and M. AVRON (1980)
Glycerol, β -carotene and dry algal meal pro-
duction by commercial cultivation of *Dunaliella*
In: Algae Biomass: Production and Use
(Eds.: SHELEF, G. & SOEDER, C.J.),
Elsevier, Amsterdam, 603-610

BEN-AMOTZ, A. and M. AVRON (1981)

Glycerol and β -carotene metabolism in the
halotolerant alga *Dunaliella*: a model system for
biosolar energy conversion
Trends Biochem. Sc. 6, 297-299

BEN-AMOTZ, A. (1982)

Accumulation of β -carotene in halotolerant al-
gae: Purification and characterization of
 β -carotene-rich globules from *Dunaliella barda-*
wil (Chlorophyceae)
J. Phycol. 18, 529-537

BERNINGER-EISELE, C. (1987)

Histologisch-morphometrische Untersuchungen am
Dünndarm von Hühnerküken nach Fütterung mit
Bakterieneiweiß M
Vet. Med. Diss. Universität München

BLATTNA, J. (1964)

Vorkommen der Vitamine A
In: Vitamine: Chemie und Biochemie, Bd. I (Ed.:
FRAGNER, J.)
Jena, Gustav Fischer Verlag, 316-317

BLOMHOFF, R., P. HELGERND, M. RASMUSSEN, T. BERG and
K. R. NORUM (1982)

In vivo uptake of chylomicron H-retinylester
by rat liver. Evidence for retinol transfer
from parenchymal to non-parenchymal cells
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79, 7326-7330

BONDI, A. and D. SKLAN (1984)

Vitamin A and carotene in animal nutrition
Progr. Food Nutr. Sc. 8, 165-191

BOROWITZKA, L.J., M.A. BOROWITZKA and T.P. MOULTON (1984)

The mass culture of *Dunaliella salina* for fine
chemicals: From laboratory to pilot plant
Hydrobiologia 116/117, 115-134

CAVALLI-SFORZA, L. (1969)

Biometrie
Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

CHYTIL, F. and D.E. ONG (1979)

Cellular retinol- and retinoic acid-binding
proteins in vitamin A action
Federation Proc. 38, 2510-2514

FRIDGE, N.H. and De W.S. GOODMAN (1968)

The enzymatic reduction of retinol to retinal in
rat intestine
J. Biol. Chem. 243, 4372-4379

FUCHS, R.R. (1983)

Zur Charakterisierung Nährstoff-unabhängiger
Nebenwirkungen von Single Cell Protein
(Probion) bei Geflügel
Vet. med. Diss. Universität München

GOODMAN, D.S., HUANG, H.S., KANAI, M., and SHIRATORI, T.
(1967)

The enzymatic conversion of all-trans β -carotene
into retinal

J. Biol. Chem. 242, 3543-3554

GROPP, J., K. KÖNIG und E. STADLER (1980)

Nebenwirkungen bei der Prüfung hoch SCP-
haltiger Diäten bei Geflügel

In: Mikrobielle Proteingewinnung und Bio-
technologie, 2. Symposium 1980 (Eds.: PRAVE, P.,
SCHÜGERL, K., ZUCKER, H.),

Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach Flori-
da, Basel (1982), 205-213

GROPP, J. und E. STADLER (1981)

Unveröffentlichte Arbeiten

GROPP, J. (1983)

Mündliche Mitteilung

GROPP, J. und E. STADLER (1984)

Unveröffentlichte Arbeiten

HASHISH, S., O. EL-HUSSEINY and A.I. EISSA (1984)

Effect of dietary vitamin A levels on egg
production, incidence of blood spots and the
intensity of egg yolk color

Poultry Science 63, 111

HOLLANDER, D. and S. MURALIDHARA (1977)

Vitamin A intestinal absorption in vivo:
influence of luminal factors on transport
Am. J. Physiol. 232, 471-477

HOLLANDER, D. and P.E. RUBLE, Jr. (1978)

β -Carotene intestinal absorption: bile, fatty
acid, pH, and flow rate effects on transport
Am. J. Physiol. 235, 686-691

HOOGERHEIDE, J.C., K. YAMADA, J.D. LITTLEHAILS and
K.OHNO (1979)

Guidelines for the testing of Single Cell Pro-
tein destined as a protein source for animal
feed - II
Pure and Appl. Chem. 51, 2537-2560

HOPPE, P., J. BRÜGGEMANN und J. TIEWS (1970)

Die Vitamin A-Wirksamkeit der Retinsäure im
Wachstumsversuch an Küken
Internat. Z. Vit. Forschung 40, 260-269

HOPPE, P. und J. BRÜGGEMANN (1972)

Untersuchungen über den Vitamin A-Gehalt in der
der Leber von Wildtieren
Internat. Z. Vit.-Ern. Forschung 42, 98-103

- KNOOK, D.L., A. BRONWER, and A.M. LEEMIS (1982)
Role of fat-storing liver cells in vitamin A
metabolism (abstr.)
Proc. 6th Int. Congr. Liver Dis. Freiburg, West
Germany: Falk Found, 103
- KONRAD, H. (1983)
Untersuchungen zur Aufhebung einer SCP-beding-
ten Wachstumsdepression bei Geflügel
Vet. Med. Diss. Universität München
- KRAUSS, S. (1982)
Zur Charakterisierung von Nähr- und Wirkstoff-
imbancen in Single Cell Protein (Procion)
bei Geflügel
Vet. Med. Diss. Universität München
- LINDER, M.C., G.H. ANDERSON and I. ASCARELLI (1971)
Quantitative distribution of vitamin A in Kupffer
cell and hepatocyte populations of rat liver
J. Biol. Chem. 246, 5538-5539
- LOTTHAMMER, K.H., L. AHLSEDE und H. MEYER (1976)
Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin A
unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die
Fertilität des Rindes
2. Mitteilung: Weitere klinische Befunde und
Befruchtungsergebnisse (Versuch III)
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 83, 353-358

- MC KENNA, M.C., W.C. ROBISON, and J.G. BIERI (1983)
Cellular localization of liver vitamin A in rats
given total parenteral nutrition solution
J. Nutr. 113, 1176-1186
- NEFF, A., D.B. PARRISH, J.S. HUGHES and L.F. PAYNE (1949)
The state of vitamin A in eggs
Arch. Biochem. 21, 315-320
- OLSON, J.A. (1984)
Formation and function of vitamin A
In: Biosynthesis of Isoprenoid Compounds,
edited by J.W. Porter and S.L. Spurgeon
New York, Wiley, vol. 2, 371-412
- PLACK, P.A. (1960)
Nature (London) 186, 234-235
- PROTEIN ADVISORY GROUP (PAG):
Guideline No. 6 (1970); Preclinical testing of
novel sources of protein
In: Single Cell Protein II. (Eds.: TANNENBAUM,
S.R., WANG, I.C.),
MIT Press, Cambridge Massachusetts, London
(1975), 629-654
- SAUBERLICH, H.E. (1985)
Bioavailability of vitamins
Progr. Food Nutr. Sc. 9, 1-33

SCHLIPALIUS, L. (1987)

Natural Beta Carotene from Algae

8th Int. Symposium on Carotinoids, Boston

SHEFFER, M. and M. AVRON (1986)

Isolation of the plasma-membrane of the halo-
tolerant alga *Dunaliella salina* using sulfo-
rhodamine B as a probe

Biochim. Biophys. Acta 857, 155-164

SMITH, J.E. and D.S. GOODMAN (1979)

Retinol-binding protein and the regulation of
vitamin A transport

Federation Proc. 38, 2504-2505

SOEDER, C.J. (1976)

Zur Verwendung von Mikroalgen für Ernährungs-
zwecke

Naturwissenschaften 63, 131-138

SPEAR, P.A. (1987)

Persönliche Mitteilungen

TAGWERKER, F.J., K. STREIFF and G. BRUBACHER (1962)

Carotinoids in poultry nutrition

Proc. of the 12th World's Poultry Congress
Section Papers, 177-181

- THOMPSON, J.N., J.M. HOWELL, G.A.J. PIH and C.I.
MC LAUGHLIN (1969)
Biological activity of retinoic acid in the
domestic fowl and the effects of vitamin A
deficiency on the chick embryo
Br. J. Nutr. 23, 471-485
- THOMPSON, S.Y. (1975)
Role of carotene and vitamin A in animal feeding
Wld. Rev. Nutr. Diet. 21, 224-280
- TIEWS, J. (1965)
Die fettlöslichen Vitamine
In: Lehrbuch der Veterinär-Physiologie
(5. Auflage), Ed.: A. SCHEUNERT und A. TRAUTMANN,
Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg
- WAKE, K. (1971)
Perisinusoidal cells with special reference to
storage of vitamin A
Am. J. Anat. 132, 429-461
- WOLF, G. (1984)
Multiple functions of vitamin A
Physiol. Rev. 64, 873-937

Tab. a: Vitaminvormischung

Versuche I und II

5 g Vitaminvormischung (= 1 kg Futter) enthalten:

Cholecalciferol	0,025	mg
α -DL-Tocopherolacetat	30,000	mg
Menadion	1,000	mg
Thiamin	15,000	mg
Riboflavin	25,000	mg
Pyridoxin	15,000	mg
Cobalamin	0,030	mg
Biotin	0,150	mg
Folsäure	0,100	mg
Ca-Pantothenat	50,000	mg
Nikotinsäure	100,000	mg
Cholinchlorid	1500,000	mg

Tab. b: Spurenelementvormischung
Versuche I und II

1 g Spurenelementvormischung enthält:

FeSO ₄ x 7 H ₂ O	149,34	mg
MnSO ₄ x H ₂ O	61,34	mg
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	11,74	mg
ZnSO ₄ x 5 H ₂ O	132,00	mg
Na ₂ SeO ₃ x 5 H ₂ O	0,20	mg
KJ	0,134	mg
CaCO ₃	645,246	mg

Tab. c: Spurenelementvormischung
Versuch III

1 g Spurenelementvormischung (= 1 kg Futter) enthält:

Fe (aus Eisenfumarat)	100,00	mg
Zn (aus Zinkacetat x 2 H ₂ O)	80,00	mg
Mn (aus Mangansulfat x H ₂ O)	80,00	mg
Cu (aus Kupferacetat x H ₂ O)	12,00	mg
J (aus Kaliumjodid)	2,50	mg
Co (aus Cobaltsulfat x 7 H ₂ O)	1,00	mg
Se (aus Natriumselenit x 5 H ₂ O)	0,50	mg
F (aus Natriumfluorid)	5,00	mg
Mg (aus Magnesiumoxid)	70,00	mg

Tab. d: Vitaminvormischung
Versuch III

10 g Vitaminvormischung (= 1 kg Futter) enthalten:

Cholecalciferol	0,325	mg
α -DL-Tocopherolacetat	20,000	mg
Menadion	2,000	mg
Thiamin	4,000	mg
Riboflavin	8,000	mg
Pyridoxin	2,000	mg
Cobalamin	0,020	mg
Biotin	0,100	mg
Folsäure	1,500	mg
Ca-Pantothenat	20,000	mg
Nikotinsäure	60,000	mg
Cholinchlorid	1000,000	mg
Ascorbinsäure	100,000	mg

Tab. e: Vitaminvormischung

Versuch IV

2 g Vitaminvormischung (= 1 kg Futter) enthalten:

Cholecalciferol	0,0125	mg
α -DL-Tocopherolacetat	10,0000	mg
Thiamin	2,0000	mg
Riboflavin	4,0000	mg
Pyridoxin	3,0000	mg
Cobalamin	0,0500	mg
Biotin	0,3000	mg
Folsäure	1,0000	mg
Ca-Pantothenat	30,0000	mg
Nikotinsäure	60,0000	mg

Tab. f: Spurenelementvormischung

Versuch IV

2 g Spurenelementvormischung (= 1 kg Futter) enthalten:

FeSO ₄ x 7 H ₂ O	380,00	mg
MnSO ₄ x H ₂ O	200,00	mg
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	18,00	mg
ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	500,00	mg
Na ₂ SeO ₃ x 5 H ₂ O	0,30	mg
KJ	1,70	mg
MgO	0,70	mg

DANKSAGUNG

Meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. J. Gropp, möchte ich ganz herzlich für die Überlassung des Themas sowie für seine hilfsbereite Anleitung und Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit danken.

Herrn Professor Dr. H. Zucker gilt mein Dank für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Frau E. Stadler und Frau A. Wetzel für die technische Assistenz.

Zu Dank verpflichtet bin ich Herrn A. Ben-Amotz, Haifa, Israel, der uns die Alge *Dunaliella* zur Verfügung gestellt hat.

Herrn Dr. Florian Schweigert spreche ich meinen besonderen Dank aus für die Einführung in die Methodik und die statistische Auswertung der Daten.

Ferner möchte ich mich bei all den Mitarbeitern des Instituts für Ernährungsphysiologie bedanken, die direkt oder indirekt zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Dank gebührt auch Frau Undine Stolley und Herrn Ernst Engelhard, die mich bei den Schreibarbeiten tatkräftig unterstützten.

LEBENS LAUF

Christian Wirth	geb. am 5. Januar 1958 in Fürstenfeldbruck
Eltern	Adolf Wirth, Prof. Dipl. Ing. Centa Wirth, geb. Stannecker
Schulbildung	1964-1968 Grundschule an der Philipp-Weiß-Straße in Für- stenfeldbruck 1969-1977 Graf-Rasso-Gymnasium Fürstenfeldbruck
Abitur	24. Juni 1977
Wehrdienst	1977-1978 Sanitätsbataillon München
Studium	1979-1981 Sport und Englisch für das Lehramt an Gymnasien 1981-1987 Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universi- tät München
Staatsexamen	15. Januar 1987
Approbation	30. Januar 1987

